Aus dem Bundesgesundheitsamt
Max von Pettenkofer-Institut, Abteilung für Veterinärmedizin
Berlin
Leitender Direktor: Professor Dr.M. Zunker

UNTERSUCHUNGEN AN RAUHFORMEN VON SALMONELLABAKTERIEN

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung
des Grades eines Doktors der Veterinärmedizin

vorgelegt von
Peter Hummel
aus Grunau

Berlin 1963
Journal-Nr. 415

1963

Aus dem Bundesgesundheitsamt
Max von Pettenkofer-Institut, Abteilung für Veterinärmedizin
Berlin
Leitender Direktor: Professor Dr.M. Zunker

UNTERSUCHUNGEN AN RAUHFORMEN VON SALMONELLABAKTERIEN

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung
des Grades eines Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Peter Hummel
aus Grunau

Berlin 1963
Journal-Nr. 415

Gedruckt mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen
Fakultät der Freien Universität Berlin

Dekan: Prof. Dr. H.J. Heidrich
Referent: Prof. Dr. F. Ulbrich
Korreferent: Prof. Dr. H. Hartwigk

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Tag der mündlichen Prüfung: 20. 2. 1963

INHALTSÜBERSICHT

A. Einleitung 1

B. Literaturübersicht 2

I. Kultur- und Keimmorphologie der Rauhformen 2

II. Die Beziehungen zwischen Morphologie und serologischem Verhalten bei Rauhformen 4

III. Der S-R-Formenwechsel 8

IV. Der O-o-Strukturwechsel 11

V. Das Verhalten der Rauhformen in Salz- und Farbstofflösungen 14

C. Eigene Versuche 21

I. Untersuchungsmaterial 21

II. Henrysche Beleuchtung 22

III. Nährbodenpassagen 23

1. Endoagar 24

2. Wismutsulfitagar 24

3. Traubenzuckeragar 24

4. Trypsin-Alanin-Agar 25

IV. Deckglaskulturen 26

V. Wachstum in Bouillon 27

VI. Verhalten in Kochsalz- und Trypaflavinlösungen 29

VII. Verhalten gegenüber Auraminlösung 29

VIII. Elektrolytempfindlichkeit 31

IX. Anti-o-Seren 36

X. Pathogenitätsprüfung an Mäusen 44

D. Diskussion 47

E. Zusammenfassung 53

F. Literaturverzeichnis 54

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548012_0022

A. EINLEITUNG

Mit dieser Arbeit soll ein Beitrag zur Diagnostik der serologischen Rauhformen (o-Formen) von Salmonellakeimen im Laboratorium geleistet werden. Es bereitet oft Schwierigkeiten zu erkennen, ob und in welchem Falle eine reine o-Form vorliegt, und ob es sich nicht nur um eine morphologische R-Form mit restlichem oder erhaltenem O-Antigen handelt. In den Darstellungen der Literatur finden sich oft keine einheitlichen Ansichten über die Beziehungen zwischen morphologischem Bild und antigener Struktur der Salmonellabakterien. Durch die Prüfung des Verhaltens gegenüber Salzen und Seren, die selbst hergestellt wurden, sollte ein Einblick in die Reaktionen der o-Formen gewonnen werden.

B. LITERATURÜBERSICHT

I. KULTUR- UND KEIMMORPHOLOGIE DER RAUHFORMEN

Der Begriff der "R-Form" wurde durch ARKWRIGHT (1920) in die Literatur eingeführt. Er beobachtete Dissoziationsvorgänge bei gramnegativen Darmbakterien und bezeichnete sie nach dem morphologischen Kulturbild als S-(smooth-Glatt) und R-(rough-Rauh)Formen. KRÖGER (1955) beschreibt sie wie folgt: "Die S-Formen erscheinen auf festem Nährsubstrat rund, glatt, gewölbt und mehr oder weniger glänzend, die R-Formen dagegen flach, rauh, matt und mit unregelmäßiger Begrenzung". Aber derartige Abspaltungsvorgänge sind in der Literatur schon längere Zeit bekannt. So berichtet PREISZ (1911) über avirulente Varianten des Milzbrandbacillus, BAUCH (1918) über inagglutinable Stämme des Bacterium dysenteriae (Shiga-Kruse) und EISENBERG (1912/14) über die Variabilität der Bakterien. LINGELSHEIM (1913) beobachtete flache Kolonien mit relativ großem Durchmesser und trockener, mattglänzender Oberfläche, deren Wachstum in Bouillon durch einen scholligen, flockigen Bodensatz und eine klare überstehende Flüssigkeit gekennzeichnet war. Diese Formen zeigten in Tierpassagen ein konstantes Verhalten. LINGELSHEIM bezeichnet sie als "Q-Form". ARKWRIGHT hält sie für identisch mit seinen "R-Formen". Besonders SCHUETZE (1921) und P.B. WHITE (ab 1925) haben sich mit dem S-R-Formenwechsel beschäftigt. Es tauchte nun die Frage auf, ob sich bereits aus der Teilung der einzelnen Zelle das künftige morphologische Kulturbild ersehen läßt. K. HU (1936) hat, um der Frage nachzugehen, ob der Unterschied schon bei den einzelnen Keimen zu erkennen ist, Einzellkulturen von Mäusetyphusbakterien auf Nährbodenfilmen untersucht und kommt dabei zu dem Schluß, daß sich Bakterien "glatter" Kolonien stumpfwinklig

zueinander legen und daß es dadurch zu einer kreisförmigen "glatten" Anordnung kommt. Anders jedoch die Keime "rauher" Kolonien, welche die Tendenz haben sollen, sich bei der Teilung mit der Längsachse in eine Linie zu legen. Bei mehrfacher Teilung erfolgt ein Zusammenschieben und dadurch eine Wellenform, wodurch einzelne Bakterien herausgedrückt werden. Es ergibt sich eine gekräuselte Anordnung. Diese zeigt dann das makroskopische Bild einer unregelmäßigen Kolonie, das Bild einer "R-Form".

Ähnliche Untersuchungen stellten ROELCKE und INTLEKOFER (1938) an drei verschiedenen Wachstumsformen, einer Glatt-, einer Rauh- und einer Extrarauhform eines Enteritiserregers an Hand von Klatschpräparaten an. Sie kamen zu dem Ergebnis, daß die Keime der S-Form eine raschere Teilung zeigten, was größere Nester zur Folge hat. Die Zellen lagen dicht aneinander und bildeten Klumpen. Dagegen sollen die Bakterien der R-Form morphologisch plumper gestaltet sein, weniger beweglich und dadurch lange Ketten bilden, die sich in Bänder und Wellen, parallel zum Kolonierand, legen. STELLMACHER (1954) schreibt ebenfalls, daß die R-Formen im Gegensatz zu den S-Formen als besonders dicke und ovoide Keime erscheinen, die zur Fadenbildung neigen.

J.v. PRITTWITZ und GAFFRON (1952) untersuchte auf Veranlassung von KRÖGER einige S- und R-Formen unter dem Phasenkontrastmikroskop und fand, daß es dabei nicht möglich ist, bereits aus dem Aussehen und der Lagerung einzelner Stäbchen junge Kolonien auf festem Nährboden als zur Glatt- oder Rauhform gehörig zu betrachten. Erst bei Beobachtung mit geringerer Vergrößerung konnten in der Lagerung der Keime Unterschiede von "Stäbchengroßverbänden" festgestellt werden. KROGER (1955) schreibt, daß der morphologische Unterschied S oder R kein Individualsymptom, sondern ein Gruppen- oder Gemeinschaftskriterium sei.

Als erster untersuchte SCHNEWEIS (1959) eingehender die Mikromorphologie glatter und rauher Enterobacteriaceen-Kulturen in flüssigen Nährmedien, da gründliche Untersuchungen bisher nur auf festen Nährböden durchgeführt worden waren. Er konnte auf Zusammenhänge zwischen der Beweglichkeit von Rauhstämmen und ihrer Mikromorphologie in flüssigen Medien hinweisen und bestätigte die von BISSET (1938) festgestellte Wuchsform der rauhen Enterobacteriaceen.

Besonders deutlich sind die makroskopischen Unterschiede zwischen S- und R-Formen in flüssigen Nährmedien. Bereits ARKWRIGHT stellte das verschiedenartige Wachstum fest. Er hatte beobachtet, daß S-Formen mit gleichmäßiger Trübung wuchsen, während die R-Formen bei klarer überstehender Flüssigkeit einen Bodensatz bildeten. PRIGGE und KIKSCH (1942) erwähnen hierzu, daß dieses Phänomen kein Kriterium für eine Unterscheidung von S- und R-Formen sei. Die Autoren führen eine O-Variante ihres Shiga-Ruhr-Stammes an, die, unabhängig von ihrem morphologischen Bild, in Bouillon stets diffus wuchs. Die o-Variante setzte sich ab und bildete den Bodensatz. Wie sich aus den Beobachtungen von PRIGGE und KIKSCH ersehen läßt, ist der Grund dieser unterschiedlichen Suspensionsstabilität in der verschiedenartigen antigenen Struktur zu suchen.

II. DIE BEZIEHUNGEN ZWISCHEN MORPHOLOGIE UND SEROLOGISCHEM VERHALTEN BEI RAUHFORMEN

SCHUETZE führte 1921 die R-Variation auf eine tiefgreifende Veränderung in der serologischen Struktur zurück. WHITE ging diesem ebenfalls nach und fand, daß den R-Stämmen das thermostabile O-Antigen der Glattformen fehle. Nicht mit diesem Befund übereinzustimmen scheinen folgende Angaben in

der Literatur, wo u.a. MEYER und GOLDENBERG (1933), HABS und Mitarbeiter (1934) und WAALER (1936) R-Formen mit erhaltenem O-Antigen und andererseits SCHOLTENS (1937), HAAS (1937), ROELCKE und Mitarbeiter (1940) S-Formen ohne O-Antigen beschreiben. BADER (1949) und KRÖGER (1955) fordern deshalb eine genaue Benennung der verwandten und beschriebenen Stämme. Anders sei keine Eindeutigkeit zu erzielen.

SCHOLTENS (1937) macht die morphologische S-Form von S. typhi vom Vorhandensein des O- und Vi-Antigens oder mindestens eines der beiden abhängig und schreibt weiter, daß es keine Faktoren gäbe, die bei Abwesenheit dieser beiden Antigene den Typhusbakterien äußere Glatteigenschaft geben könnten. SCHOLTENS grenzt somit das äußere Koloniebild von den Antigenverhältnissen ab. KRÖGERs (1955) Schema über den S-R-Formenwechsel und den O-o-Strukturwechsel ist das verbesserte Schema von SCHOLTENS (1937) und CASELITZ (1949):

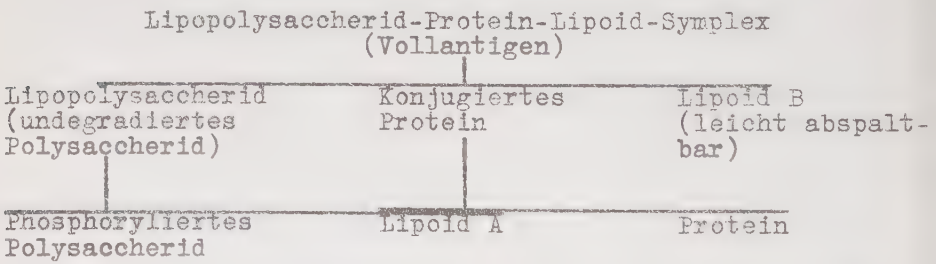
Gramnegative Darmbakterien ohne Vi-Antigen

a) S-R-Formenwechsel	b) O-o-Strukturwechsel
S-Form morphologisch typisch glatt	(H) O-Form mit komplettem O-Antigengehalt (mit oder ohne H-Antigen)
Üm-Form morphologische Übergangsform morphologisch nicht typisch rauh oder glatt	(H) Zs-Form serologische Zwischenform, mit reduziertem O-Antigengehalt (Ω-Form) (mit oder ohne H-Antigen)
R-Form morphologisch typisch rauh	(H) o-Form O-antigenfrei (mit oder ohne H-Antigen)

Eindeutig stellt es den Wechsel dar und enthält nicht mehr die Unklarheiten der beiden anderen Schemata. Denn "im Sinne der Forderung nach Konsequenz möchte man die möglichen morphologischen und serologischen Unterschiede als zwei grundsätzlich verschiedene Dinge in zwei getrennten Schemata

dargestellt sehen" (KRÖGER 1955).

Die Bezeichnung o-Form bedeutet, daß die O-Antigene der O-Form nicht mehr vorhanden sind. O-Antigene gehören zu den Körperantigenen und sind nach der O-Form der Proteusstämme benannt, die o h n e Hauch wächst, also keine Geißeln besitzt (WEIL und FELIX 1920). Mit H a u c h wächst die begeißelte Form, weshalb auch die Geißelantigene als H-Antigene bezeichnet werden. Die O-Antigene sind hitzestabil und sollen mit dem Endotoxin identisch sein (SCHMIDT 1950, PRIGGE 1952). Es sind sehr viele O-Antigene bekannt, wovon einzelne immer mehreren Typen einer Art gemeinsam sind. Ihr chemischer Aufbau stellt eine Verbindung von Kohlehydraten und Lipoiden dar. WESTPHAL und LÜDERITZ (1954) geben den Aufbau wie folgt an:



Die Komponenten der Lipopolysaccherid-Protein-Symplexe

BOIVIN führte die Bezeichnung "Glucolipoide" ein. Nach MILES und PIRIE (1949) sollen die O-Antigene eine 5 mμ dicke Auflage auf der Zellmembran bilden. Darunter soll das R-Antigen (o-Antigen) sitzen und durch den Verlust des O-Antigens wirksam werden.

BRAUN (1947) schreibt, daß bei vollkommenen Rauhformen der Polysaccheridkomplex der glatten Form durch einen Lipoidkomplex ersetzt ist. Je nach Rauhigkeitsgrad erfolgt eine Abstufung im Ersatz des Polysaccheridkomplexes der glatten Form.

SCHMIDT (1950) erklärt die Umwandlung in die o-Form dadurch, daß das R-Antigen beim Verlust des O-Antigens übrigbleibt. So sind auch die irreversiblen o-Formen zu erklären, bei welchen ein völliger Verlust des O-Antigens vorliegt; weniger konstante o-Formen sollen O-Antigen enthalten, aber hier soll eine Umschichtung zwischen dem O- und o-Antigen von innen nach außen erfolgen.

GRINELL (1931) führte Kreuzagglutinationen mit Seren von vier Varianten eines Typhusstammes durch. Er stellte dabei fest, daß allen Varianten ein somatisches Antigen gemeinsam war, welches mit dem Bakterienprotein verbunden sein soll. Das Glatt- oder Rauhwachstum soll von einer weiteren Substanz beeinflußt werden, von der er annimmt, daß es sich um ein Kohlehydrat handelt. GRINELL läßt offen, ob das verschiedenartige Wachstum, glatt oder rauh, durch quantitative oder qualitative Unterschiede der Kohlehydratfraktion bedingt ist. IDE (1938) fand mit Hilfe der KBR eine Einteilung der R-Formen in drei Gruppen, die in keiner Beziehung zur O-Antigenstruktur standen. Sämtliche R-Formen ließen sich einer der drei Gruppen zuordnen.

BOIVIN, CORRE und LEHOULT (1942) fanden in ihren Untersuchungen, daß das o-Antigen sämtlichen Salmonellen gemein ist, daß es nicht nur die Rauhform enthält, sondern auch die Glattform. WASELITZ (1949) erhielt in einem Anti-o-Serum positive Agglutinationen mit dem homologen R(o)-Stamm und dem R(Ω)-Stamm. RÖGER (1952/53) prüfte seine Teststämme mit den Anti-o-Seren eines Salmonellastammes und eines Colistammes in der KBR mit dem Ergebnis, daß die Ro- und die RΩ-Formen gebunden wurden, während sich die SO-Formen negativ verhielten. Ein weiteres Aufschließen der SO-Formen durch zweistündiges Autoklavieren (2 Std. bei 120°C) führte dann ebenfalls zu positiven Reaktionen.

BEGUIN und GRABAR (1953) fanden ein allen Ro- und SO-Formen der Salmonellen gemeinsames nichttypenspezifisches o-Antigen. Sie wiesen es in Bakterien nach, die vorher mit Aceton getrocknet waren.

Da bisher keine Beziehungen zwischen dem o-Antigen und dem morphologischen Bild gefunden wurden, schlägt KRÖGER (1955) vor, für die serologischen Varianten eine andere Bezeichnung als gerade R-Rauh zu wählen.

STELLMACHER (1958) fand in seinen Versuchen, daß das o-Antigen nicht jeder Kultur eigen ist, und daß es auch innerhalb einer Kultur unterschiedlich stark auftreten kann. Das o-Antigen soll nicht nur auf die Salmonellagruppe beschränkt sein, sondern auch bei anderen Bakterien vorkommen.

Der Aufbau des o-Antigens wurde durch KAUFFMANN und Mitarbeiter (1960/61) geklärt: es gehört zu dem Chemotyp I, dem einfachsten Typ, der aus vier stets gleichbleibenden Zuckern Glucosamin, Heptose, Galaktose und Glucose aufgebaut ist. KAUFFMANN (1956) fand bei 8 S. paratyphi B- und 1 S. typhimurium-Stämmen ein neues Antigen, welches er T-Antigen nannte, da es eine Übergangsform (Transientform) zwischen O- und o-Antigen darstellt. Ein morphologischer Unterschied zwischen der S- und T-Form soll nicht bestehen. Später stellte KAUFFMANN (1957) bei S. bareilly ein weiteres T-Antigen fest, welches aber mit dem oben beschriebenen nicht identisch war, und das er deshalb zur Unterscheidung von T_1- als T_2-Antigen bezeichnete.

III. DER S-R-FORMENWECHSEL

Für das Auftreten des S-R-Formenwechsels werden ganz verschiedene Ursachen genannt. Ein Teil der Autoren sieht ihn genetisch bedingt, ein anderer Teil sieht in ihm eine Modifikation. DUBOS (1947) erkennt in der Veränderung keinen

Beweis einer Variation im Sinne der Mendelschen Gesetze. GUNDEL (1950) bezieht sich auf VAN LOGHEM (1929) und ist der Ansicht, daß die Mehrzahl aller bakteriellen Variationen physiologisch-pathologische Reaktionen auf bestimmte Umweltverhältnisse seien. LOGHEM bestreitet allerdings nicht das Vorhandensein von Erblichkeitsvorgängen bei Bakterien, aber er stellt die physiologischen Anpassungsvorgänge in den Vordergrund. JOLLOS (1924) bezeichnet derartige Veränderungen als Dauermodifikationen. BAERTHLEIN (1931) ist der Ansicht, daß die bakterielle Variabilität mehr oder weniger stark erblich fixiert ist. Für BOIVIN und DELAUNAY (1947) gibt es, wie bei allen Lebewesen, so auch bei Bakterien nicht vererbbare und vererbbare Veränderungen. SCHLOSSBERGER (1952) unterscheidet reversible und irreversible Veränderungen; reversibel sind Veränderungen des Phänotyps, die durch äußere Einflüsse bedingt sind. Besonders sind zu nennen die Anderung in Größe, Form und die Ausstattung mit Enzymen. Die Anderung des Genotyps führt durch Mutation zu irreversiblen Veränderungen. Dies soll relativ unabhängig von der Umwelt geschehen. SCHLOSSBERGER (1952) nimmt bezug auf DELBRÜCK (1945), LURIA (1947), TATUM und LEDERBERG (1947) und BOIVIN (1947). Weiter schreibt SCHLOSSBERGER (1952), daß sich die Mutanten entweder besonders gut anpassen und dadurch die alte Form überwuchern (Verdrängung von S-Formen durch R-Formen), oder daß sich die Mutanten an die kulturellen Bedingungen schlecht anpassen und schnell wieder verschwinden. FELIX und PITT sind der Ansicht, daß durch den Verlust des O-Antigens eine schnellere Vermehrung stattfindet. KRÖGER (1955) gibt eine ausführliche Aufstellung der Autoren, die sich für oder gegen die Annahme einer Mutation als Ursache des S-R-Formenwechsels aussprechen.

Keineswegs braucht bei einem Formenwechsel von S zu R oder von R zu S ein antigener Strukturwechsel zu erfolgen. BADER

(1949) schreibt zu diesem Problem, daß die Umwandlung der Glatt- in die Rauhform im allgemeinen von einer tiefgreifenden Veränderung in der Antigenstruktur (serologische Rauhform) gefolgt ist, gibt aber schon zu, daß sich ein Wechsel des morphologischen Bildes nicht immer auch im Antigenverhalten ausdrückt. Ohne Rücksicht auf das Aussehen der Kolonien würde die Bezeichnung "S-R-Dissoziation" im übertragenen Sinne auch für die Antigenveränderung gebraucht.

Über den Einfluß des Nährbodens auf das morphologische Kulturbild liegen eine Reihe von Mitteilungen vor. ROELCKE und INTLEKOFER (1938) fanden in ihren Untersuchungen an drei verschiedenen Wuchsformen eines Enteritiserregers unter anderem, daß zahlreiche Passagen auf Traubenzuckeragar eine Umwandlung von R zu S begünstigen. Dieses Ergebnis weicht allerdings von den Angaben späterer Autoren völlig ab.

CASELITZ (1949) berichtet über eine R-Form, ihr Wachstum auf Endo- und 2%igem Traubenzuckeragar. Daraus wird die Abhängigkeit des morphologischen Bildes vom Nährboden ersichtlich. HEYMANN (1952) stellte ebenfalls die Abhängigkeit des Glatt-Rauh-Formenwechsels vom Nährboden fest. Seine Versuche mit Sh. Flexneri zeigten, daß auf feuchtem Agar (0,85-1%ig) alle Formen glatt, auf trockenem Agar (4 und 5%ig) sämtliche Formen rauh wuchsen. KRÖGER (1955) geht in seinen Versuchen vom Bild der "morphologischen Grundform" (KRÖGER 1952 und 1953) auf dem üblichen 2%igen Fleischwasseragar aus und kommt dabei zu dem Ergebnis, daß einige Nährböden eine gleichsinnige, andere eine ungleichsinnige Beeinflussung des morphologischen Bildes bewirken. So wuchsen auf 2%igem Traubenzuckeragar samtliche Stämme rauh, während Löffler-Serum alle Stämme glatt erscheinen ließ. Auf Brillantgrünphenolrotagar erschienen einerseits eine R-Form praktisch glatt, während eine S-Form (allerdings von E. coli) ein rauheres morphologisches Kulturbild

zeigte. Als weitere Versuchsnährböden führt KRÖGER noch Blutagar, Wismutsulfitagar, Desoxycholatagar und Eiernährboden an. An Hand der serologischen Daten und der Rückverimpfung auf den üblichen Fleischwasseragar, der wieder die Grundform zeigte, ließ sich einwandfrei ein rein phänotypischer Formenwechsel erkennen, bei welchem sich demnach nur das morphologische Bild, in keinem Fall aber die antigene Struktur geändert hatte. Diese Änderungen sind nur als Modifikation zu erklären, es liegt keineswegs eine gerichtete Mutation vor.

IV. DER O-o-STRUKTURWECHSEL

Früher ist eine genaue Definition der Kriterien S/R und O/o leider oft unterblieben, und somit ist auch aus der Literatur häufig schwer zu erkennen, ob die Autoren den morphologischen oder den antigenen Wechsel meinen. So spricht z.B. SCHMIDT (1950) von einem reversiblen und irreversiblen S-R-Formenwechsel, jedoch versteht er unter letzterem den antigenen O-o-Strukturwechsel.

Der besseren Übersicht wegen sind daher bei den folgenden Besprechungen des serologischen Formenwechsels statt der von den Autoren benutzten Bezeichnungen S und R die Bezeichnungen O und o verwendet worden.

ARKWRIGHT und PITT (1924) und BRUCE WHITE (1925) kamen durch ihre Versuche in Nährmedien zu der Ansicht, daß eine Umwandlung von serologisch glatten zu serologisch rauhen Formen erfolgen kann, daß aber keine Methode mit Sicherheit zum Erfolg führt. Die serologischen Varianten wären weitgehend als konstant anzusehen. In der Literatur sind Versuche zur Umwandlung in beiden Richtungen, d.h. von O zu o und von o zu O beschrieben worden, teils mit, teils ohne Erfolg.

Folgende Autoren beschreiben gelungene Umwandlungen der O- in die homologe o-Form. REIMANN (1925) empfiehlt dazu die Züchtung in Bouillon, der spezifisches Anti-O-Serum zugesetzt wurde. NEUFELD und LEVINTHAL (1928) nennen die Züchtung in Organstückchen enthaltender Bouillon. Nach BURNET (1930) soll die Gegenwart von Bakteriophagen die Bildung von o-Formen begünstigen. MEYER und GOLDENBERG (1933) schreiben zu diesem Problem, daß ein derartiger Strukturwechsel zwar möglich, aber nicht sicher reproduzierbar ist. Sie erprobten nacheinander drei Methoden: häufiges Überimpfen (WHITE), Züchtung in spezifisches Antiserum enthaltender Bouillon (REIMANN) und Züchtung in Organstückchen enthaltender Bouillon. Aus sich selbst überlassener Bouillon erhielten sie in der dritten Woche o-Formen, wobei Immunserumzusatz und ebenso Organstückchen diesen Vorgang beschleunigten. HABS und SEITZ (1934) erreichten eine Umwandlung von O- in o-Formen durch 2 Passagen in Bouillon mit hochwertigem O-Antigenzusatz. Diese dadurch erhaltenen o-Formen blieben in flüssigen Nährmedien weitgehend konstant. Auch SCHOLTENS (1937) berichtet über eine erfolgreiche Umwandlung in die o-Form. CASELITZ (1951) erhielt durch Einwirkung von Ultraschall auf 62 Salmonellastämme (O-Stämme) 3 Stämme, die nachher rauh wuchsen. BEGUIN und GRABAR (1952) und KROGER (1955) haben durch einfaches Alternlassen noch die besten Ergebnisse bei der Umwandlung von O zu o erzielt. MØLLER (1952) dagegen gelang die Umwandlung von O- in die o-Formen nicht.

Die Versuche einer Rückführung der o- in die O-Form verliefen weniger erfolgreich. So soll nach JORDAN (1926), WELCKER (1934), HABS und SEITZ (1934) und BRAUN (1947) die Umwandlung von o- in die O-Form möglich, aber sehr schwierig sein. SCOTT (1926) gelang durch Zusatz von O-Antikörpern zum Nährmedium eine Überführung von o zu O, nicht aber

nach vorherigem Erhitzen des Serums auf 70°C oder nach Absorption der O-Antikörper. BOIVIN (1942) konnte das Ergebnis von HABS und SEITZ (1934) über gelungene Versuche mit homo- und heterologer O-Formvaccine nicht bestätigen. HABS und SEITZ (1934) und BOIVIN (1942) versuchten es noch mit dem Zusatz von o-Antikörpern zum Nährboden. Aber es gelang nicht, die o-Form in die O-Form zurückzuführen. BADER (1949) erhielt O-Formen aus stabil erscheinenden o-Formen durch Kultivierung auf Löffler-Serum. Nach KRÖGER (1955) soll sich aber durch eine derartige Kultivierung nur das morphologische Bild ändern, die Kulturen sollen nur phänotypisch glatt erscheinen. BRANDIS (1956) erreichte durch die Einwirkung von Anti-o-Phagen auf o-Formen Umwandlungen in die homologen O-Formen. ZANDER (1960) benutzte zur Überführung alter Laboratoriumsstämme, die in der o-Form vorlagen, in die O-Form Trypsin-Serum-Agarplatten (10 Passagen). GEISSLER (1962) erwähnt einen Trypsin-Alanin-Agar, mit dessen Hilfe es möglich ist, o-Formen in die O-Form zurückzuführen.

Auch die in-vivo-Versuche, die o-Form in die O-Form überzuführen, zeigten bei manchen Autoren Erfolg. BETTENCOURT (1930) infizierte Meerschweinchen durch Injektion von o-Formen in die Brusthöhle und erhielt neben den o-Formen auch einige O-Varianten. MEYER und GOLDENBERG (1933) hatten bei der parenteralen Infektion, kombiniert mit heterologer O-Formvaccine, keinen Erfolg. Bei WELCKER (1934) verlief die parenterale Infektion von Mäusen (i.p. und s.c.) mit Bakterien der Paratyphusgruppe erfolgreich, indem es gelang, einen Teil der o-Keime in die O-Variante umzuwandeln. MØLLER (1948) gelang es nicht, Keime der o-Form durch parenterale Infektion in Keime der O-Form überzuführen. CASELITZ (1949) infizierte Mäuse oral und es gelang ihm nicht, aus der o-Form die O-Form zu gewinnen. STELLMACHER

(1954) konnte durch subcutane Injektion bei der Maus eine Umwandlung von einer o- in die O-Form (nach 48 Std. verstarb die Maus) erzielen. Der Meerschweinchenversuch verlief negativ. Die anderen von ihm durchgeführten Versuche brachten keine direkte Umwandlung, sondern steigerten nur den einen oder anderen Anteil. KRÖGER (1955) erhielt durch diese Infektionsart 1mal SO-Formen aus dem Herzblut, sonst unverändert Ro-Keime. Aus diesen Versuchen schließt KRÖGER, daß der O-o-Formenwechsel nur als genotypisch bedingt angesehen werden kann. Diese Aussage wird gestützt durch die Ergebnisse der Versuche von CASELITZ (1949) und KRÖGER (1955) über die serologische Konstanz der im O-Antigen veränderten Formen, die erneut nachgewiesen wurde. Er schreibt zusammenfassend, daß allen Verfahren zur Umwandlung wohl nur "im Prinzip...eine die vorhandene Neigung zur Mutation oder die Mutationsraten oder auch die Selektion der Mutanten fördernde Wirkung zukommt".

Abschließend sei darauf hingewiesen, daß es sich bei den wenigen positiv verlaufenen Versuchen auch um eine Selektion von O-Formen aus nicht reinen o-Stämmen gehandelt haben kann.

V. DAS VERHALTEN DER RAUHFORMEN IN SALZ- UND FARBSTOFF-LÖSUNGEN

Schon ARKWRIGHT (1921) bemerkte das verschiedenartige Verhalten der Varianten von Ruhr-, Typhus- und Paratyphus- und Enteritisbakterien in Salzlösungen. Eine Variante agglutinierte spontan in physiologischer NaCl-Lösung, die andere nicht. Bei niederen Konzentrationen, so bei 0,45 und 0,1%iger NaCl-Lösung fand keine Agglutination statt; er erhielt stabile Suspensionen. Parallel mit diesem Verhalten lief das Wachstum in Bouillon. Varianten, die in physiologischer

Kochsalzlösung stabil blieben, wuchsen mit diffuser Trübung in Bouillon; Varianten, die in physiologischer NaCl-Lösung agglutinierten, bildeten bei klarer überstehender Flüssigkeit in Bouillon einen Bodensatz. Im biochemischen Verhalten konnte ARKWRIGHT keine Unterschiede finden. TACU und Mitarbeiter (1960) stellten bei ihren Untersuchungen mit einem S. cholerae suis-Stamm, den sie aus erkrankten Ferkeln isoliert hatten, fest, daß dieser R-Stamm gegenüber den S-Stämmen ein etwas anderes biochemisches Verhalten zeigte. Einige Kohlehydrate wurden durch die R-Form nicht zerlegt.

BRUCE WHITE (1925) empfiehlt den Salztest nicht nur zur Differenzierung der S- und R-Formen, sondern auch der O- und o-Keime. PRIGGE und KIKSCH (1942) nehmen sich dieses Verhalten zu Hilfe, um aus Mischkulturen O-Formen zu gewinnen, indem sie eine Aufschwemmung in Bouillon 48 Stunden bei Zimmertemperatur stehen lassen. Durch Abimpfen aus der überstehenden Flüssigkeit konnten sie noch vorhandene O-Keime, die in der Schwebe blieben, gewinnen. Aber eine Unterscheidung von S- und R-Formen sei damit nicht möglich, nur O- und o-Keime könnten getrennt werden. CHLOE TAL (1950) säuberte eine R-Form von restlichen S-Formkeimen durch Aufschwemmen in physiologischer Kochsalzlösung, ließ sie über Nacht bei 4°C stehen, wobei sich die R-Formkeime absetzten. Eine 3-4malige Wiederholung führte zu reinen R-Formen. Offensichtlich meint sie in ihrer Arbeit, wie auch KRÖGER (1955) annimmt, O- und o-Varianten.

BADER (1949) faßt die Deutungen über das verschiedene Verhalten der Varianten in Bouillon und den Salztest dahingehend zusammen, daß das kochsalzlabile hydrophobe Tiefenantigen an die Stelle des kochsalzstabilen hydrophilen Oberflächenantigens tritt, daß das Polysaccherid der O-Antigene durch einen Lipoidkomplex ersetzt wird.

CASELITZ (1949) sieht das unterschiedliche Verhalten als ein wichtiges Unterscheidungsmerkmal zwischen S- und R-Formen an. Er fordert von tatsächlichen R-Formen u.a., daß sie mit Bodensatz bei klarer überstehender Flüssigkeit wachsen müssen, daß eine Agglutination in 0,9%iger NaCl-Lösung erfolgen muß und daß diese Keime avirulent sind. KRÜGER (1952/53) bestätigt das verschiedene Verhalten des morphologischen Bildes gegenüber dem serologischen Bild, das PRIGGE und KIKSCH (1941) bei ihrem Shiga-Kruse-Stamm feststellten. KROGER (1952/53) stellt im Gegensatz zu PRIGGE und KIKSCH, CHLOE TAL und CASELITZ keine völlige Sedimentation seiner o-Formen in Bouillon fest. KRÖGER (1955) schreibt dazu, daß eine völlige Suspensionsstabilität in Bouillon, 0,9 und 3,5%iger NaCl-Lösung wohl für O-Formen und gegen o-Formen, jedoch eine teilweise Stabilität nicht unbedingt für eine R-Form, d.h. morphologische R- oder S-Form mit vermindertem O-Antigen spricht. MEYER und GOLDENBERG (1933) stellten ein ähnliches Verhalten fest als eine R(o)-Form in Bouillon mit fast gleichmäßiger Trübung wuchs. STELLMACHER (1954) schreibt hierzu, daß sich die von ihm verwendeten o-Formen binnen kurzem in physiologischer NaCl-Lösung zu Boden setzten, während die R-Forme erst in 3,5%iger NaCl-Lösung völlig oder auch nur teilweise ausfielen. KRÜGER (1955) erwähnt DUBOS (1947), nach welchem der Verlust des O-Antigens manchmal beobachtet werden kann, ohne daß er von einem völligen Wechsel des morphologischen Charakters oder der spontanen Agglutinabilität begleitet wird.

Ein unterschiedliches Verhalten der Varianten konnte nicht nur in Salz-, sondern auch in Farbstofflösungen ermittelt werden. Man knüpfte dabei an ältere Versuche an. So wurden schon früher Versuche mit Chrysoidinlösungen (BROSSA 1923 bei Choleravibrionen), Safranin und Vesuvin (MALVOZ 1897

zur Unterscheidung von Typhus und Colibakterien, EISENBERG (1914) und anderen Farbstoffen unternommen. TAEGUE und BUXTON (1907) schreiben, daß nur basische Farbstoffe agglutinierend wirken sollen. BROSSA (1922) bestätigt diese Annahme. ALESSANDRINI und SABATUCCI (1931) unternahmen als erste Versuche mit Trypaflavin zur Differenzierung von Brucellen. PAMPANA (1931) wendete dies zur Unterscheidung von S- und R-, bzw. O- und o-Formen an. PAMPANA stellte fest, daß R-Formen durch eine 0,2%ige Trypaflavinlösung gut, S-Formen nicht agglutiniert werden. Von S-Formen, die ebenfalls positiv reagieren, nahm er an, daß sie teilweise das Antigen der R-Formen besitzen oder daß in ihnen einzelne Keime der R-Form enthalten sind. CASTELLI (1934) löste Trypaflavin in aqua dest. und in NaCl-Lösungen und stellte verschiedene Reaktionen fest: In wassergelöstem Trypaflavin agglutinierten sämtliche Stämme, in kochsalzgelöstem Trypaflavin dagegen nur ein Teil. HIRSCH (1937), KAUFFMANN (1937) und GIOVANARDI (1938) fanden in ihren Untersuchungen, daß nicht nur R-Formen, sondern auch bestimmte S-Formen, wie z.B. die Vi-Form von S. typhi und die ß-Phase von S. typhi, eine positive Reaktion zeigen können. Bei HAAS (1937) war aber eine o-Form (So-Form von Sh. dysent.) in Trypaflavin inagglutinabel. KAUFFMANN (1937) äußerte sich über die Trypaflavinreaktion dahingehend, daß eine negative Trypaflavinreaktion Rauhformen nur ausschließen könne, und eine positive somit nicht nur Rauhformen anzeige. ROELCKE (1942) erwähnte eine negative Trypaflavinreaktion (0,1%) mit einer Flachform von Sh. sonnei, die nur schwach in Anti-O-Serum agglutinierte und andererseits einen Fall einer positiven Trypaflavinreaktion des Sh. paradysent. palatinense, obgleich es O-Antigen enthielt. KASELITZ (1952) erwähnte Stämme, die eine positive Reaktion haben und weder R-Eigenschaften noch Vi-Antigen zeigten, doch in einer unspezifischen Phase vorlagen. Er lehnt die

Trypaflavinprobe als Kriterium zur Unterscheidung von R- und S-Formen ab.

Um etwas Klarheit zu schaffen, prüfte KRÖGER (1952) seine Teststämme mit 14 basischen Farbstoffen (Acridingelb, Auramin, Bismarckbraun, Brillantgrün, Chrysoidín, Diamantfuchsin Janusgrün, Malachitgrün, Methylviolett, Methylenblau, Neutralrot, Pyronin, Toluidinblau, Trypaflavin). KRÖGER verwendete Lösungen in aqua dest. in fallender Verdünnung ab m/100 bis zur Titergrenze. Die Agglutinationen erfolgten auf dem Objektträger. Das Reaktionsbild wurde mit jedem Stamm mannigfaltiger, "so daß eine systematische Ordnung in den Beziehungen zwischen den basischen Farbstoffen und den gramnegativen Darmbakterien immer weniger erkenntlich" wurde. Trypaflavin wurde als unzulänglich in der sicheren o-Formdiagnose erkannt, ebenso für die O-Formdiagnose. Ähnlich lagen die Ergebnisse mit den anderen basischen Farbstoffen. KROGER schreibt weiter. "daß eine unterschiedliche Empfindlichkeit gegen basische Farbstoffe bei O- und o-Formen eines Bacteriums vorhanden sein kann, jedoch nicht sein muß".

WAGNER und BREDEHORST (1953) glauben ebenfalls, daß nur basische Farbstoffe o-Formen agglutinieren. Allerdings führte eine Erhitzung bei der relativ stabilen O-Variante ebenfalls zur Ausfällung. Das Verhalten der o-Formen erklärten sie u.a. durch die Größe des Oberflächenpotentials.

LEHNERT und THAL (1959) unternahmen Versuche mit Salzen, so Lanthannitrat, Cernitrat, Cerchlorid als 3-wertige und Kupfernitrat, Calciumnitrat und Eisen-(II)-Chlorid als 2-wertige Salze. Dabei stellte sich heraus, daß die S-Formen innerhalb eines bestimmten Konzentrationsgebietes stabil blieben. während die R-Formen hochgradig elektrolytempfindlich waren. Die Stabilität der S-Formen überraschte umso mehr, als Schwermetalle eine stark fällende Wirkung auf

hydrophile Kolloide - so auch auf Bakterien - haben. Durch bestimmte Versuche (Agglutinationen von Mischungen aus S und R) gelang es den Autoren, sich an Hand der Reaktionen über den Grad der vorliegenden Dissoziation zu orientieren.

Zusammenfassend sei wiederholt, daß keine einheitlichen Ansichten über die Kriterien, die eine o-Form von Salmonellabakterien kennzeichnen, bestehen. Ein Teil der Autoren glaubt Beziehungen zwischen dem morphologischen Bild und der antigenen Struktur der Keime zu erkennen. Es ist dabei häufig schwierig, herauszufinden, ob die Autoren jeweils den morphologischen oder serologischen Wechsel meinen. Meist verwenden sie die gleiche Bezeichnung für beide Vorgänge. KRÖGER (1955) wendet sich dagegen und möchte den morphologischen und serologischen Wechsel als zwei völlig getrennte Eigenschaften betrachtet sehen. Sein Schema über diesen Wechsel beseitigt die Unklarheiten der Schemata von SCHOLTENS (1937) und CASELITZ (1949). Daß diese Eigenschaften getrennt zu betrachten sind, beweisen auch die Versuche von HEYMANN (1952). Hier wird gezeigt, daß unabhängig vom antigenen Verhalten das makroskopische Kulturbild verändert werden kann. BADER (1949) sieht eine Umwandlung der Glatt- in die Rauhform von einer tiefgreifenden Änderung in der Antigenstruktur begleitet, schränkt aber ein, daß sich ein derartiger Wechsel nicht immer im Antigenverhalten ausdrückt.

Ob sich die morphologische Kultureigenschaft schon in der einzelnen Zelle oder in der Mikromorphologie zeigt, scheint auch noch nicht eindeutig geklärt zu sein. Versuche von K. [illegible] (1936), ROELCKE und INTLEKOFER (1938), BISSET (1938), SCHNEWEIS (1959) und STELLMACHER (1954) besagen, daß es möglich ist, Unterschiede in Lagerung und Gestalt zu erkennen. PRITTWITZ und GAFFRON (1952) und KRÖGER (1955) sprechen sich gegen diese Annahme aus, da sie die Unterschiede erst

in Stäbchengroßverbänden manifestiert sahen.

Ähnlich wie das morphologische Koloniebild soll auch das Antigenverhalten willkürlich, wenn auch etwas schwieriger, zu verändern sein (REIMANN 1925, MEYER und GOLDENBERG 1933, HABS und SEITZ 1934. BADER 1949, BRANDIS 1956, ZANDER 1960, GEISSLER 1962). KRÖGER (1955) schreibt zu diesem Problem, daß diese Umwandlungen keine mit Sicherheit reproduzierbaren Veränderungen seien, sondern daß es sich hier um eine die Mutation oder die Mutationsraten oder auch die Selektio fördernde Wirkung der Zusatzstoffe handelt. Auch kann es sich hier bei diesen Versuchen um Selektionen gehandelt haben. Aus den neueren Untersuchungen (z.B. KRÖGER 1955) scheint mit einiger Sicherheit hervorzugehen, daß der morphologische S-R-Formenwechsel als Variation, der O-o-Strukturwechsel als Mutation anzusehen ist.

Früher glaubte man, im Salz- und Farbstofftest eine geeignete Methode gefunden zu haben, R- und S- oder, wie sich später herausstellte, O- von o-Formen zu trennen. Es hat sich aber erwiesen, daß zwar in NaCl- und Trypaflavinlösung stabile Formen keine o-Formen sind, daß es sich aber nicht unbedingt um O-Formen zu handeln braucht. Ebenso muß es sich bei einer positiven Reaktion nicht um eine o-Form handeln. Die strenge Differenzierung der Zwischenformen von den reinen Formen ist mit dieser Methode nicht möglich. KRÖGER (1955), der sich eingehend mit diesem Problem beschäftigte, untersuchte noch die Wirkung anderer basischer Farbstoffe und kam dabei zu dem Schluß, daß es auch hiermit nicht möglich ist, genaue Angaben über die serologische Struktur zu machen. Auch schließt sich KRÖGER (1955) nicht der Ansicht von CHLOE TAL (1950) und CASELITZ (1951) an, daß o-Formen in Bouillon mit völliger Sedimentation wachsen Er konnte bei seinen o-Formen keine völlig klare überstehen Flüssigkeit feststellen. Eine geeignete Methode zur Diffe-

enzierung von O- und o-Formen scheint nach LEHNERT und THAL 1959) die Langsamagglutination in Metallsalzlösungen zu sein. ie Autoren konnten aus der Stärke der Reaktion den Grad der issoziation ermitteln.

s soll nun der Versuch gemacht werden, zu der Klärung der och offenen Fragen beizutragen, indem das morphologische nd serologische Verhalten von o-Formen in Nährbodenpassagen nd die serologischen Reaktionen gegenüber Salzen, Farbstoff-ösungen, Seren und die Pathogenität im Mäuseversuch geprüft ird.

. EIGENE VERSUCHE

. UNTERSUCHUNGSMATERIAL

as Material für diese Arbeit wurde aus Salmonella-Stämmen usgesucht, die von westdeutschen Untersuchungsämtern an as Max-von-Pettenkofer-Institut des Bundesgesundheitsamtes ingesandt worden waren. Stämme, deren Kulturbild "rauh" erchien oder die in Normalseren agglutinierten, wurden ausesucht und auf 2%igem Fleischwasseragar angezüchtet. Mit ilfe der Henryschen Beleuchtung wurde das morphologische ild der Kolonien nochmals geprüft; vorkommende Dissoziationsormen einzelner Stämme wurden getrennt weitergezüchtet. Die erimpfung erfolgte dabei nicht mit der Öse, sondern mit inem Glasfaden, um möglichst wenig Keime und dadurch einlne Kolonien zu gewinnen. Somit gelang es, die verschieren morphologischen Dissoziationsformen - und wie sich äter herausstellte, oft auch verbunden mit einem unterchiedlichen Verhalten in NaCl- und Trypaflavinlösungen - isolieren.

tämme, die in 0,9 und 3,5%iger NaCl- und in 0,2%iger Tryflavinlösung spontan agglutinierten, wurden zur weiteren

Untersuchung ausgesucht. In Anlehung an die Angaben in der Literatur wurden sie als o-Stämme, die in den genannten Salzlösungen stabilen Kontrollen als O-Stämme bezeichnet. Es wurde dies Kriterium benutzt, da das morphologische Bild keineswegs immer parallel lief mit dem Verhalten in Kochsalz und Trypaflavin.

Von ca. 110 in engere Wahl gezogenen Stämmen blieben 22 übrig, die sich in den oben genannten Lösungen positiv verhielten. Es handelte sich um 16 S. dublin-, 2 S. typhi murium- und 2 S. gallinarum-pullorum-Stämme und je einen S. give- und S. orientalis-Stamm. Mit diesen Stämmen wurden die Nährbodenpassagen durchgeführt.

Für die späteren Untersuchungen, die hauptsächlich das antigene Verhalten von o-Formen klären sollten, wurden 20 weitere Stämme ausgewählt, die ebenfalls in den oben genannten Lösungen agglutinierten. Es waren 14 S. dublin-, je 2 S. gallinarum-pullorum- und S. typhi murium-Kulturen und je ein S. chester- und S. infantis-Stamm.

II. HENRYsche BELEUCHTUNG

Wie oben erwähnt, erfolgte die Betrachtung der Kolonien mit Hilfe der HENRYschen Beleuchtung, d.h. mit einer Beleuchtung von unten in einem Winkel von ca. 45°. Dabei wurde die Kultur durch die Platte und den Agar angestrahlt. Der schräge Lichteinfall von unten ermöglichte durch die Kontrastwirkung ein gutes Betrachten und Klassifizieren der Kolonien. Die Beschreibung bzw. Benennung ging von der Beschaffenheit der Oberfläche der Kolonien aus. Als "S-Formen" wurden Kolonien beschrieben, die das typisch glatte Wachstum zeigten, d.h. eine sehr fein strukturierte und regelmäßige Oberfläche (keine Schleimbildung) zeigten und bei denen der Rand der Kolonie streng begrenzt und vor alle

leichmäßig war. R-Formen zeichneten sich durch ein stark eklüftetes Oberflächenprofil und stark gezackte Ränder aus. ie zwischen diesen beiden Formen liegenden Wachstumsformen urden als Intermediärformen bezeichnet. Je nach dem Grad er "Rauhigkeit" wurden sie als I_1, I_2, I_3 und I_4 benannt, obei die glattesten die I_1- und die rauhesten die I_4-Formen waren. Oft war es schwierig, sich genau festzulegen, a die Unterschiede nicht nur in der Oberfläche, sondern uch in Farbe und Durchsichtigkeit bestanden. Letztere beiden Eigenschaften wurden relativ wenig berücksichtigt, da erartige Kriterien oft individuelle Merkmale der verschiedenen Stämme darstellten. Der Einteilung in S, I_1, I_2, I_3, I_4 und R lagen die in knapper Symbolik ausgedrückten Unterschiede des Oberflächenprofils und der Randbegrenzung zugrunde.

II. NÄHRBODENPASSAGEN

ei den folgenden Versuchen wurde von der Annahme ausgegangen, daß Kolonien von Salmonellakeimen auf verschiedenen ährböden auch verschiedene morphologische Kulturbilder zeigen. Es sollte geprüft werden, inwieweit sich dieses Bild eeinflussen läßt und ob sich allgemein eine Veränderung in iner Richtung, entweder ein Glatt- oder Rauhwerden, erzielen äßt. Auch sollte überprüft werden, ob sich die Keime trotz er Passagen gegenüber Kochsalz- und Trypaflavinlösungen nverändert verhielten. Die auf Eiernährboden aufbewahrten tämme wurden auf 2%igem Fleischwasseragar angezüchtet und hr Verhalten in 0,9 und 3,5%iger NaCl- und 0,2%iger Trypaflavinlösung festgestellt. Die Prüfung auf Stabilität in iesen Lösungen erfolgte mittels der Objektträgeragglutination. Im Anschluß an diese vorbereitenden Arbeiten wurden ie Stämme auf die verschiedenen Nährböden überimpft. Es rfolgten Passagen über Endo-, 2%igen Traubenzuckeragar, Wis-

mutsulfitagar (Wilson-Blair-Agar) und Trypsin-Alanin-Agar. Zur Kontrolle liefen gleichzeitig Passagen auf 2%igem Fleischwasseragar mit. Nach jeweils zwei Passagen wurde das Verhalten gegenüber Kochsalz und Trypaflavin kontrolliert. Nach 8 Passagen wurden die Versuche beendet.

1. ENDOAGAR

Bereits nach der ersten Überimpfung war eine einheitliche Veränderung zu einem glatten morphologischen Kulturbild erkennbar. Die mehr oder weniger rauhen Stämme erschienen durchgehend glatter als auf Fleischwasseragar. Noch deutlicher war das Bild nach der 2. Passage. Nur einige Stämme behielten ihre alte Kulturform bei. Der größte Teil erschien um einige Grade glatter; die Kolonien waren rund, glänzend und zeigten nicht mehr das stark unregelmäßige Oberflächenprofil und die gezackten Ränder. Von der 4. Passage ab blieb das Bild konstant. Nur ein Stamm veränderte sich erst nach der 5. Passage nicht mehr.

Unabhängig vom morphologischen Bild blieb das Verhalten gegenüber Kochsalz- und Trypaflavinlösungen konstant, d.h. stabile Formen blieben stabil, unstabile blieben unstabil.

2. WISMUTSULFITAGAR

Ein ähnliches, aber noch deutlicheres Ergebnis wurde durch Passagen auf Wismutsulfitagar erhalten. Bis auf einen Stamm erschienen sämtliche Stämme als S-Form. Konstant bei I_4 blieb nur der Stamm S. orientalis, welcher auch durch weiteres Überimpfen nicht umzuzüchten war.

Das Verhalten in Kochsalz und Trypaflavin blieb unverändert

3. TRAUBENZUCKERAGAR

In anderer Richtung liefen die Versuche auf Traubenzuckeragar. Hier zeigte sich eindeutig die Tendenz einer Verände-

rung zur rauhen Kulturform. Sämtliche Stämme wuchsen rauher. Auch hier konnte eine Umwandlung nur im morphologischen Bild festgestellt werden. Unverändert blieb das Verhalten gegenüber Kochsalz und Trypaflavin.

4. TRYPSIN-ALANIN-AGAR

Zusammensetzung des Trypsin-Alanin-Agars nach GEISSLER:
Bouillon aus tryptisch verdautem Fleisch
+ 1,5 % Agar
+ 0,5 % Casein
+ 0,25 % Alanin (kurz vor dem Erstarren zugeben)
pH nicht angegeben, hier auf 7,4-7,5 eingestellt.

Die Versuchsreihe mit Trypsin-Alanin-Agar ergab ein nicht so einheitliches Bild. Von den 8 benutzten Stämmen verhielten sich 3 trotz der 8 Passagen unverändert, die restlichen zeigten eine mehr oder minder stark ausgebildete Tendenz zum glatten Wachstum. Die Stämme S. pullorum 22/61 und S. dublin 27/61 wuchsen von der 1. bis zur 4. Passage rauher als ihre Ausgangsform auf 2%igem Fleischwasseragar. Erst die 5. Passage zeigte das ursprüngliche Bild beim Stamm S. pullorum 22/61, während dies beim Stamm S. dublin 27/61 nicht mehr erreicht wurde.

Das Verhalten gegenüber 0,9 und 3,5%iger NaCl- und 0,2%iger Trypaflavinlösung wurde nach jeder 2. Passage geprüft und blieb bei sämtlichen Stämmen unverändert.

Die Kontrollpassagen dieser 4 Versuchsreihen auf Fleischwasseragar zeigten keinerlei Veränderungen. Die Stämme behielten ihr altes Kulturbild bei, und auch die Ergebnisse gegenüber Kochsalz und Trypaflavin blieben unverändert.

Durch Rückimpfung auf Fleischwasseragar wurde in allen Fällen das alte Kulturbild, wie es die Ausgangsform zeigte, wiedergewonnen. Oft waren dazu nur eine oder zwei Überimpfungen erforderlich.

IV. DECKGLASKULTUREN

Um das Wachstum von Einzellkulturen auf Nähragar im Mikroskop beobachten zu können, wurde die Deckglaskultur nach FORTNER (1930) angewandt. Dabei wird ein Deckglas normaler Größe (24 x 32 mm) einseitig auf flüssig gemachten Nähragar aufgeklatscht. Beim Abheben bleibt eine dünne Nährbodenschicht haften, welche man bei senkrechter Haltung des Deckglases festwerden läßt. Danach wird die Nährbodenschicht auf die benötigte Größe zugeschnitten. Die Beimpfung erfolgt strichweise mit einem Glasfaden, um möglichst wenig und vor allem einzelne Bakterien auf diese Nährbodenschicht zu verbringen. Im Anschluß daran wird das Deckglas auf einen Hohlschliff-Objektträger verbracht und mit Vaseline luftdicht verschlossen, um eine durch die geringe Dicke bedingte schnelle Austrocknung zu verhindern. Das Präparat wird im Brutschrank bebrütet und kann in beliebigen Zeitabständen unter dem Mikroskop beobachtet werden, wobei die Betrachtung durch das Deckglas und die sehr dünne Nährbodenschicht hindurch auch bei starker Vergrößerung möglich ist.

Nach oben beschriebener Technik wurden einige rauhe und glatte Stämme untersucht. Die Auswahl erfolgte nach dem morphologischen Bild und dem Verhalten gegenüber Kochsalz- und Trypaflavinlösungen. Die Versuchsbedingungen waren für sämtliche Stämme dieselben. Von jeder Kultur wurden mindestens zwei einzeln liegende Keime ausgewählt und ihr Wachstum bzw. ihre Teilung stundenweise durch den Versuch hindurch verfolgt. Dabei ergab die Auswertung der Versuche ein uneinheitliches Bild. Es ließ sich aus der Lagerung der Einzelkeime und ihrer Teilung nicht feststellen, ob ein morphologisch glatter oder rauher Stamm vorlag. Auch die Keime mit gleichem Verhalten in NaCl- und Trypaflavinlösungen zeigten keine ähnlichen Bilder. Unterschiede im

Aussehen und der Größe der Keime konnten ebenfalls nicht ermittelt werden.

Eine Differenzierung in "glatt" oder "rauh" konnte erst erfolgen, wenn die Kolonien bei Lupenbetrachtung sichtbar wurden. Betrachtungen dieser Kolonien bei stärkeren Vergrößerungen machten eine Unterscheidung unmöglich, da sich der Unterschied erst in Zellgroßverbänden manifestierte. Auch in den Randzonen, wo sich unter der Lupe der Unterschied besonders deutlich zeigte, konnten mit Hilfe starker Vergrößerungen keine Kriterien ermittelt werden, die Rückschlüsse auf das makroskopische Bild der Kolonie erlaubten.

V. WACHSTUM IN BOUILLON

Neben dem Wachstum auf festen Nährböden wurde das Verhalten dieser Stämme in gewöhnlicher Fleischextraktbouillon bestimmt. Dabei ließ sich erkennen, daß nicht sämtliche Stämme nur als Bodensatz wuchsen, sondern auch die überstehende Flüssigkeit getrübt wurde. So bildeten von den 20 ausgewählten Stämmen nur 7 den Bodensatz bei klar bleibender überstehender Flüssigkeit (Tabelle 1). Im Gegensatz hierzu wuchsen die restlichen 13 Stämme mit einer leichten Trübung des überstehenden Mediums. Der Bodensatz war mehr (11 Stämme) oder minder (2 Stämme) deutlich sichtbar.

Die als Kontrolle mitgeführten "S-Stämme" zeigten zum Teil einen gering ausgebildeten Bodensatz bei jedesmal stärkerer Trübung der überstehenden Flüssigkeit. Dieses hier beschriebene Wachstum in einem flüssigen Nährmedium ging nicht parallel mit dem morphologischen Bild auf festen Nährböden. Das einigermaßen einheitlich erscheinende Bild stand den verschiedenen Kulturformen auf festen Nährböden

Tabelle 1

Wachstum in Bouillon nach 24stündiger Bebrütung

o-Stämme:	Bs	klar	trüb	l.Trübg
S. pullorum 22/61	++	+	-	-
S. dublin 27/61	+	-	-	+
S. dublin 135/61	±	-	-	+
S. dublin 215/61	+	-	-	+
S. dublin 322/61	+	-	-	+
S. dublin 338/61	+	-	-	+
S. dublin 639/61	+	-	-	+
S. dublin 996/61	(+)	-	-	+
S. dublin 1012/61	+	-	-	+
S. dublin 1060/61	++	+	-	-
S. dublin 1247/61	+	-	-	+
S. dublin 1444/61	+	-	-	+
S. dublin 1517/61	++	+	-	-
S. dublin 1519/61	++	+	-	-
S. dublin 1520/61	++	+	-	-
S. pullorum 2090/61	++	+	-	-
S. typhi murium 1939/61	+	-	-	+
S. chester 2225/61	++	+	-	-
S. infantis 2404/61	+	-	-	+
S. typhi murium 2431/61	+	-	-	+
O-Stämme:				
S. dublin 2310/61	±	-	+	-
S. paratyphi B 909	-	-	+	-
S. paratyphi C East Africa	±	-	+	-
S. typhi murium 8921	±	-	+	-
S. newington 405/59	-	-	+	-
S. enteritidis var. Essen 321/59	±	-	+	-

Bs = Bodensatz

klar = klare überstehende Flüssigkeit

trüb = Trübung der überstehenden Flüssigkeit

l.Trübg = leichte Trübung der überstehenden Flüssigkeit

gegenüber. So wuchs z.B. der Stamm S. gallinarum-pullorum 22/61 auf festem Nährboden (2%iger Fleischwasseragar) als runder, glatter Knopf, mit streng begrenzten Rändern. Er zeigte ein gut erkennbares glattes Wachstum. Im Gegensatz dazu wuchs dieser Stamm in Bouillon bei völlig klarem Überstand als gut ausgebildeter Bodensatz.

Hieraus ließ sich folgern, daß das morphologische Bild auf festen Nährböden zu trennen ist von dem Verhalten in flüssigen Nährmedien, welches weitgehend dem serologischen Verhalten der Keime entsprach.

VI. VERHALTEN IN KOCHSALZ- UND TRYPAFLAVINLÖSUNGEN

Das Verhalten der Prüfungsstämme gegenüber 0,45, 0,9 und 3,5%iger NaCl- und 0,1 und 0,2%iger Trypaflavinlösung wurde in der Objektträgeragglutination geprüft (Tabelle 2). Hierbei waren graduelle Unterschiede zwischen diesen beiden Reagenzien festzustellen. Die Spontanagglutination in NaCl war oft sehr feinkörnig und mit dem unbewaffneten Auge schlecht zu erkennen, während die Bakterienmasse sich in Trypaflavin zu größeren Flocken zusammenklumpte. Zu den sich anschließenden Versuchen wurden nur Stämme verwendet und als o-Stämme bezeichnet, die mit 0,9 und 3,5%iger NaCl- und 0,1 und 0,2%iger Trypaflavinlösung positive Reaktionen zeigten. Der Stamm S. pullorum 2090/61 zeigte außerdem eine fix positive Agglutination in 0,45%iger NaCl-Lösung.

VII. VERHALTEN GEGENÜBER AURAMINLÖSUNG

Neben der Prüfung des Verhaltens der Stämme gegenüber 0,9 und 3,5%iger NaCl- und 0,1 und 0,2%iger Trypaflavinlösung wurde auch die Reaktion in 0,3%iger Auraminlösung auf dem Objektträger geprüft (Tabelle 2). Es wurde ein im Grunde ähnliches Ergebnis erhalten. Stämme mit positiver Reaktion

Tabelle 2

Prüfung des Verhaltens der Versuchsstämme gegenüber 0,45, 0,9 und 3,5%iger NaCl-, 0,1 und 0,2%iger Trypaflavin- und 0,3%iger Auraminlösung in der Objektträgeragglutination.

	NaCl-Lösung			Trypafl.		Auramin
o-Stämme:	0,45	0,9	3,5%	0,1	0,2%	0,3%
S. pullorum 22/61	-	++	++	++	++	++
S. dublin 27/61	-	++	++	(+)	+	++
S. dublin 135/61	-	++	++	++	++	+
S. dublin 215/61	-	-	-	-	-	-
S. dublin 322/61	-	++	+	+	+	++
S. dublin 338/61	-	++	++	+	+	+
S. dublin 639/61	-	++	++	++	++	++
S. dublin 996/61	-	+	++	++	++	++
S. dublin 1012/61	-	+	++	++	++	++
S. dublin 1060/61	-	++	++	++	++	++
S. dublin 1247/61	-	+	++	++	++	+
S. dublin 1444/61	-	+	++	+	++	++
S. dublin 1517/61	-	++	++	++	++	++
S. dublin 1519/61	-	++	++	++	++	++
S. dublin 1520/61	±	++	++	++	++	++
S. pullorum 2090/61	+	++	++	++	++	++
S. typhi murium 1939/61	-	+	++	++	++	++
S. chester 2225/61	-	+	++	++	++	++
S. infantis 2404/61	-	±	++	++	++	+
S. typhi murium 2431/61	-	+	++	+	+	+
O-Stämme:						
S. dublin 2310/61	-	-	-	-	-	-
S. paratyphi B 909	-	-	-	++	++	±
S. paratyphi C East Africa	-	-	-	-	-	-
S. typhi murium 8921	-	-	-	-	-	-
S. newington 405/59	-	-	-	-	-	-
S. enteritidis 321/59	-	-	-	-	-	-
S. typhi murium 573	-	-	-	-	-	-
S. schwarzengrund	-	-	-	-	-	-
S. anatum	-	-	-	-	-	-
S. binza	-	-	-	-	-	-

gegenüber NaCl und Trypaflavin zeigten auch hier ein positives Verhalten. Die O-Stämme verhielten sich in dieser Lösung bis auf einen Stamm negativ. Dieser Stamm S. paratyphi B 909, welcher aber auch in 0,1 und 0,2%iger Trypaflavinlösung agglutinierte, reagierte fraglich. Aus den sonst noch vorgenommenen Versuchen war zu ersehen, daß der Stamm S. paratyphi B 909 kein rein "glatter" Stamm war.

VIII. ELEKTROLYTEMPFINDLICHKEIT

Technik (nach LEHNERT und THAL):

Die auf 2%igem Fleischwasseragar angezüchteten Stämme wurden mit frisch hergestellter 7,8%iger Saccharoselösung abgeschwemmt. Aus dieser Aufschwemmung wurde durch Zentrifugieren die Bakterienmasse gewonnen und in neuer Saccharoselösung mit Hilfe eines Vergleichsröhrchens (97% $BaCl_2$+ 3% H_2SO_4) auf stets gleiche Konzentrationen eingestellt. Die Verdünnung der molaren Salzlösung (das Salz wurde in Aqua dest. gelöst) wurde in 7,8%iger Saccharoselösung vorgenommen. Zu den jeweils 0,5 ml Salzverdünnung wurden 0,5 ml Bakteriensuspension pipettiert und über Nacht bei 40°C im Wasserbad belassen.

Wenn im Folgenden von Titer und Titergrenze gesprochen wird, so ist damit diejenige Verdünnung gemeint, bei der eine mindestens 50%ige Agglutination erfolgt.

In den Versuchen sollte das Verhalten von Salmonellastämmen gegenüber Metallsalzen geprüft werden. Verwendet wurden dieselben Salze, die auch LEHNERT und THAL in ihren Versuchen benutzten: Lanthannitrat ($La(NO_3)_3.6H_2O$), Cernitrat ($Ce(NO_3)_3.6H_2O$), Cerchlorid ($CeCl_3.7H_2O$), Eisen-(II)-Chlorid ($FeCl_2.4H_2O$), Kupfernitrat ($Cu(NO_3)_2.3H_2O$) und Calciumnitrat ($Ca(NO_3)_2.4H_2O$). Als "o-Stämme" wurden die erwähnten 20 Stämme genommen, die in 0,9 und 3,5%iger NaCl- und in

0,2%iger Trypaflavinlösung agglutinierten. Zur Kontrolle liefen 6 Stämme mit, die mit den oben angegebenen Kochsalz- und Trypaflavinkonzentrationen nicht reagierten. Sie sind als "O-Stämme" bezeichnet (s.Tabelle 3 und 4).

Die als o-Stämme geführten Stämme zeigten mit sämtlichen 6 Salzlösungen noch in sehr hohen Verdünnungen positive Reaktionen. So lagen die Titergrenzen bei Lanthannitrat, Cernitrat und Cerchlorid durchschnittlich bei einer Verdünnung von 1 : 10240, mit Kupfernitrat bei 1 : 640, mit Eisen-(II)-Chlorid und Calciumnitrat bei 1 : 160. Ob direkte Zusammenhänge zwischen dem Molekulargewicht der Salze und der Titergrenze bestanden, konnte nicht geklärt werden. Es lag ein gewisses proportionales Verhalten vor.

Bei einigen Stämmen waren, so besonders mit Cernitrat und Cerchlorid, die Reaktionen in höheren Verdünnungen besser und eindeutiger ausgebildet als in den niederen Bereichen. Die deutlich positiven Reaktionen gingen häufig innerhalb einer Verdünnungsstufe in völlig negative über.

Das Verhalten der Stämme gegenüber der Verdünnungsflüssigkeit Saccharoselösung (isotonische 7,8%ige Lösung) war negativ, es traten keine Ausfällungen auf. Auch verhielten sich die Salzkontrollen stets negativ gegenüber Saccharoselösung.

L a n t h a n n i t r a t: (Tabelle 3) Die Prüfung der o-Stämme mit Lanthannitrat zeigte, daß mit steigender Verdünnung die Stärke dor Ausfällung zunahm. Nur bei 2 Stämmen ließ sich dieses Phänomen nicht erkennen, hier wurde durch die ganze Verdünnungsreihe eine 100%ige Agglutination abgelesen. Bei den 20 geprüften Stämmen lag die Titergrenze durchschnittlich bei 1 : 10240; dabei 8mal unter und 5mal über diesem Wert. Die mitgeführten O-Stämme wurden sehr viel schwächer agglutiniert. 3 Stämme von den insgesamt 6

reagierten völlig negativ, die anderen 3 reagierten zwar positiv, aber die Titer lagen bei 1 : 10, 1 : 20, 1 : 40.

C e r n i t r a t: (Tabelle 3) Ähnlich lagen die Ergebnisse bei Cernitrat, nur daß die Titergrenze der o-Stämme nicht so schwankte wie bei Lanthannitrat. Fast gleichmäßig lag sie bei 1 : 10240; bei 3 Stämmen um 1 : 5120 und bei 4 Stämmen bei 1 : 20480. Ebenfalls zeigte sich in den Bereichen der höheren Konzentrationen die Hemmung der Agglutination. Mit steigender Verdünnung verschwand diese negative Phase und die Reaktionen wurden stärker. Die O-Stämme, welche gegenüber Lanthannitrat ein negatives Verhalten zeigten, agglutinierten auch mit Cernitrat nicht, während bei den anderen 3 Stämmen die Titergrenze bei 1 : 640 lag. Auch die O-Stämme ließen in den unteren Verdünnungszonen diese negative Phase erkennen. Der Stamm S. dublin 2310/61 verhielt sich sogar bis zu einer Verdünnung von 1 : 80 völlig negativ, um dann bei 1 : 160 und 1 : 320 1mal und bei 1 : 640 2mal positiv zu reagieren.

C e r c h l o r i d: (Tabelle 3 und 4) Die Ergebnisse gegenüber Cerchlorid waren ähnlich. Die Titergrenze ließ sich mit 1 : 10240 angeben. Auch bei Cerchlorid traten negative Phasen in niederen bzw. mittleren Verdünnungen auf, wie ein Protokollauszug (Tabelle 4) zeigt. Abweichend war nur das Verhalten von 3 O-Stämmen, wovon ein Stamm bis 1 : 1280, ein anderer bis 1 : 2560 negativ, bei 1 : 5120 1mal und ab 1 : 10240 wieder negativ reagierten. Der dritte Stamm, ein S. paratyphi C East Africa, zeigte bis 1 : 160 ein 4mal positives und bei 1 : 320 bis 1 : 2560 ein 1mal positives Bild, um bei 1 : 5120 fraglich und ab 1 : 10240 negativ zu reagieren (Tabelle 4).

Vergleichbar waren die Ergebnisse der Versuche mit Eisen-(III)-Chlorid, Kupfernitrat und Calciumnitrat, nur daß die Titergrenze niedriger lag (Tabelle 3).

Tabelle 3

Titervergleich der Versuchsstämme mit Metallsalzen: 1. Lanthannitrat, 2. Cernitrat, 3. Cerchlorid, 4. Eisen-(II)-Chlorid, 5. Kupfernitrat und 6. Calciumnitrat

o-Stämme:	1.	2.	3.	4.	5.	6.
S. pull. 22	5120+	10240	10240	640	640	160
S. dublin 27	5120	5120	10240	320	640	160
S. dublin 135	5120	10240	20480	320	320	320
S. dublin 215	-	5120	5120	-	320	-
S. dublin 322	10240	10240	10240	160	640	80
S. dublin 338	10240	10240	5120	160	1280	80
S. dublin 639	20480	20480	5120	80	640	160
S. dublin 996	10240	10240	10240	160	320	320
S. dublin 1012	10240	20480	10240	320	640	320
S. dublin 1060	10240	20480	10240	160	640	320
S. dublin 1247	10240	10240	20480	320	320	160
S. dublin 1444	40960	20480	20480	320	320	160
S. dublin 1517	20480	10240	10240	640	320	320
S. dublin 1519	5120	10240	10240	5120	320	320
S. dublin 1520	5120	10240	20480	2560	320	320
S. pull. 2090	5120	10240	10240	1280	320	320
S. ty.mur. 1939	20480	10240	20480	2560	320	160
S. chester 2225	10240	10240	20480	2560	320	160
S. infantis 2404	5120	5120	-	2560	320	40
S. ty.mur. 2431	40960	10240	20480	1280	320	160
O-Stämme als Kontrollen:						
S. dublin 2310	10	640	-	-	10	-
S. paraty. B 909	40	640	-	80	-	-
S. paraty. C East Africa	20	640	160	-	80	-
S. ty.mur. 8921	-	-	-	1280	-	-
S. newington 405/59	-	-	-	320	-	-
S. ent.var. Essen 321/59	-	-	-	640	-	-

+ = reziproker Titer

abelle 4

angsamagglutination der Teststämme in Cerchlorid

almonella- -Stämme:	10	20	40	80	160	320	640	1280	2560	5120	10240	20480
ull. 22	3	3	2	2	1	1	3	4	4	4	4	-
ublin 27	4	3	3	2	2	2	2	2	2	4	4	-
ublin 135	3	2	2	1	1	2	2	4	4	4	4	4
ublin 215	-	-	-	-	-	1	1	4	4	3	-	-
ublin 322	2	2	-	-	1	1	2	3	4	4	4	-
ublin 338	2	2	-	-	1	1	2	3	4	4	4	-
ublin 639	2	2	1	-	1	1	2	4	4	4	-	-
ublin 996	2	1	-	-	-	1	1	1	4	4	3	-
ublin 1012	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	2	1
ublin 1060	1	1	1	1	3	4	4	4	4	4	4	-
ublin 1247	3	3	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
ublin 1444	4	1	1	1	2	3	4	4	4	4	4	4
ublin 1517	3	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	1
ublin 1519	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	1
ublin 1520	3	3	3	4	4	4	4	4	4	4	4	2
ull. 2090	1	1	1	1	2	2	2	3	3	3	2	1
y.mur.1939	1	1	1	2	3	3	3	3	4	4	4	3
hest. 2225	1	1	2	2	2	2	2	2	2	4	3	3
nf. 2404	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	-	-
y.mur.2431	4	2	1	1	1	1	1	1	1	3	4	4
almonella- -Stämme:												
ublin 2310	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-
araty.B 909	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-
araty.C ast Africa	4	4	4	4	4	1	1	1	1	±	-	-
y.mur. 8921	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ewington 05/59	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
nt.var.Essen 21/59	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Zu erwähnen wäre noch das Verhalten der drei O-Stämme: S. typhi murium 8921, S. newington 405/59 und S. enteritidis var. Essen 321/59 gegenüber Eisen-(II)-Chlorid. Mit diesem Salz zeigten die sonst ständig negativ reagierenden Stämme ein ähnliches Verhalten wie die o-Stämme. Auch die Wiederholung dieser Agglutination ergab kein anderes Bild.

Zusammenfassend konnte festgestellt werden, daß die o-Formen mit diesen Metallsalzlösungen besonders in den höheren Verdünnungen eindeutig positive Reaktionen gaben, während die O-Formen negativ oder doch wesentlich schwächer reagierten. Unterschiede, bedingt durch die serologische Gruppenzugehörigkeit, konnten nicht ermittelt werden. Die Titergrenze schien unabhängig davon nur durch den Grad der serologischen "Rauhigkeit" beeinflußt zu werden.

IX. ANTI-o-SEREN

In den folgenden Versuchen sollten Anti-o-Seren durch Immunisierung von Kaninchen gewonnen werden. Die Tiere stammten aus der Institutszucht. Vor Versuchsbeginn wurden die Normalseren der Tiere auf eventuell vorhandene Antikörper untersucht. In der Langsamagglutination wurden die Titer der serologischen Gruppen B, C, D und E bestimmt. Die Ablesung erfolgte nach 24 Stunden Aufenthalt im Wasserbad bei 50°C. Nebenher liefen stets Kontrollen der Seren und des Antigens mit physiologischer Kochsalzlösung. Die Agglutinationstiter waren negativ oder auf unterste Stufen beschränkt und dadurch unwesentlich für diese Versuche.

Nach diesen vorbereitenden Untersuchungen erfolgte die Immunisierung der Tiere. Es wurden drei Gruppen mit je zwei Tieren gebildet. Die Immunisierungsstämme gehörten zu den Gruppen B: S. typhi murium 68/60, D_1: S. dublin 378/60 und E_1: S. give. Die Herstellung des Antigens erfolgte nach folgender

ethode:

0 ml Bouillon in 50 ml-Kölbchen wurden mit einer Öse Kul-
ur beimpft und 18 Stunden bei 37°C bebrütet. Danach wurde
ie gleiche Menge (20 ml) an 0,6%iger Formalinkochsalzlösung
40%ige handelsübliche wurde als konzentrierte, als 100%ige
ösung angesehen) zugesetzt, so daß eine 0,3%ige Lösung re-
ultierte. Nach 6 Stunden Aufenthalt bei Zimmertemperatur
urde von der Bouillon eine Agarplatte beimpft und 24 Stun-
en als Sterilitätskontrolle bebrütet. Es war kein Wachstum
estzustellen. Dieses nun keimfreie Antigen wurde im Kühl-
aum bei 4°C aufbewahrt.

ie Injektionen erfolgten nach folgendem Schema jeweils in
ie Ohrvene:

1. Tag 0,5 ml Antigen
5. Tag 1,0 ml "
10. Tag 2,0 ml "
15. Tag 3,0 ml "

m 20. Tag nach der 1. Injektion erfolgte eine intracardiale
robeblutentnahme. Das Resultat der Prüfung dieser Seren mit
en jeweiligen homologen Stämmen in der Langsamagglutination
rgab bei S. give einen Titer von 1 : 320, bei S. typhi
urium 68/60 von 1 : 80 und bei S. dublin 378/60 von 1 : 10
ei KAN. 641 und von 1 : 40 bei KAN. 642. Da diese Ergebnisse
icht befriedigten, erfolgte am 23. Tag noch eine Nachinjek-
ion von 3,0 ml Antigen in die Ohrvene. Am 30. Tag wurden
ie Tiere unter Eunarcon-Narkose entblutet.

ie Prüfung der fertigen Anti-o-Seren zeigte ein noch bedeu-
end schlechteres Bild als das der Vorprüfung. Trotz der
achinjektionen lagen die Titer tiefer.

ie Langsamagglutination mit O-Formen derselben serologischen
ruppen ließ erkennen, daß die Seren auch O-Antikörper ent-
ielten. Um diese die Reaktionen störenden O-Antikörper zu

beseitigen, wurden die Seren mit O-Formen der gleichen serologischen Gruppen abgesättigt.

Technik der Absättigung: Roux-Flaschen, vorher mit dem auf gewöhnlicher Bouillon angezüchteten Antigen beimpft, wurden für 18-20 Stunden bei 37°C im Brutschrank bebrütet. Der Bakterienrasen wurde mit ca. 8 ml einer 0,1%igen NaCl-Lösung abgeschwemmt. Diese dabei erhaltene Bakteriensuspension wurde bei 3 500 U/min. 10 Minuten zentrifugiert und der Bodensatz verwendet. Die Bakterienmasse von 4 Roux-Flaschen diente zur Absättigung von 1 ml Serum; später wurde die Menge des Serums auf 2,5 ml erhöht, da das Antigen durchaus ausreichte die vorhandenen O-Antikörper abzusättigen. Bakterienmasse und Serum verrührt zu einer homogenen Masse, wurden für 2 Stunden in ein Wasserbad von 50°C verbracht und anschließend 20 Minuten bei 3 500 U/min. zentrifugiert. Das Serum wurde mit 0,5 % Phenol konserviert.

Diese nun abgesättigten Anti-o-Seren wurden in der Langsamagglutination mit o- und O-Formen geprüft. Bis auf eine Ausnahme reagierten die O-Formen negativ. Der Stamm S. typhimurium 8921 zeigte mit dem Serum 641 einen Titer von 1 : 40. Die Agglutinationen mit anderen Seren verliefen negativ.

Durch die Absättigung waren auch die o-Titer weiter gesunken. Nur mit wenigen Stämmen wurden Ergebnisse erhalten, die höher als 1 : 10 lagen. Titerunterschiede, bedingt durch die serologische Gruppenzugehörigkeit der o-Prüfstämme, konnten nicht erkannt werden.

SEREN Nr. 2022 - 2029
Die Herstellung des Antigens wurde nach derselben Methode, wie bereits oben beschrieben, vorgenommen.

Die Tiere der Versuchsgruppe A: KAN. 2022 - 2025 wurden mit einem Stamm der Gruppe D_1: S. dublin 135/61, die Tiere der Versuchsgruppe B: 2026 - 2029 (wovon die Tiere 2027-2029

getötet werden mußten, bzw. verstarben) mit einem Stamm der Gruppe B: S. typhi murium 1939/61 immunisiert.

Die Injektionen erfolgten in jeweils 4-tägigen Abständen, so daß sich das folgende Schema ergab:

1. Tag 0,5 ml Antigen
4. Tag 1,0 ml Antigen
8. Tag 2,0 ml Antigen
12. Tag 3,0 ml Antigen
16. Tag 3,0 ml Antigen

Zwei der Tiere mußten am Tage der 3. Injektion wegen sich ständig verschlimmernder tonisch-klonischer Krämpfe getötet werden. Ob diese Erscheinungen in ursächlichen Zusammenhang mit den Injektionen gebracht werden konnten, war nicht zu klären. Die Sektion ergab keine pathologisch-anatomischen Veränderungen. Salmonellakeime konnten nicht aus den Organen isoliert werden. Ein drittes Tier verendete einen Tag vor der 4. Injektion. Die Befunde waren hier ebenfalls negativ. Alle drei Tiere gehörten zu einer Immunisierungsgruppe.

Die Prüfung der Anti-o-Seren mit heterologen Salmonella-O- und o-Stämmen ergab höhere Titer als der erste Versuch. Nur lagen die O-Titer bei einigen Stämmen in gleicher Höhe wie die der o-Stämme.

In der Langsamagglutination wurden die meisten o-Stämme bis zu einem Titer von 1 : 20 agglutiniert. Die Titerhöhe war dabei nicht von der Zugehörigkeit zu bestimmten O-Gruppen abhängig.

Die mitgeführten O-Stämme zeigten z.T. ebenso hohe Titer, z.T. ein völlig negatives Verhalten. Dabei ergaben sich aus den Reaktionen der einzelnen Stämme mit den verschiedenen Seren gewisse Parallelen, indem sowohl die negativen, als auch die positiven Reaktionen der O-Stämme mit den einzelnen Anti-o-Seren sich wiederholten. Um die O- und H-Antikörper

auszuschalten, wurden die Seren mit O-Stämmen derselben serologischen Gruppe abgesättigt. In diesem Versuch wurden die Absättigungsstämme in Roux-Flaschen und auf Feuchtplatten (Ø 18 cm) 18-20 Stunden bei 37°C im Brutraum angezüchtet. Für 1 ml Serum der Versuchsgruppe A wurde die Bakterienmasse der Absättigungsstämme S. dublin 1018/61 und S. dublin 2310/61 von 2 Roux-Flaschen und einer Feuchtplatte verwendet, die vorher mit ca. 8 ml einer 0,1%igen NaCl-Lösung abgeschwemmt und abzentrifugiert worden war. Nach 2 Stunden Aufenthalt im Wasserbad bei 50°C wurde das Keimmaterial 30 Minuten bei 3 500 U/min. von dem Serum abzentrifugiert. Das Serum wurde mit Phenolkochsalzlösung zur Konservierung versetzt und im Kühlraum bei 4°C aufbewahrt.

Die Absättigung des Serums Nr. 2026 der Versuchsgruppe B verlief im Prinzip ähnlich, nur daß für 2 ml Serum das Material von 3 Roux-Flaschen und 6 Feuchtplatten genommen wurde. Die Anzüchtung der Absättigungsstämme S. bonariensis und S. newport 952 erfolgte auf Gard-Platten (je drei Passagen), um die nicht benötigten H-Faktoren (e,h bei S. newport und e,n,x bei S. bonariensis) zu hemmen und die Faktoren 1,2 (S. newport) und i(S. bonariensis) möglichst rein zur Absättigung bereit zu haben. Die O-Antikörper wurden mit dem O-Stamm S. typhi murium 8921 abgesättigt.

Die abgesättigten Seren ergaben in den Prüfungen mit O-Stämmen negative Reaktionen bzw. sehr niedrige Titer (Tabelle 5). Die Höhe des o-Titers wurde durch die Absättigung ebenfalls gesenkt und lag durchschnittlich bei 1 : 20. Die Verdünnungsstufe 1 : 40 zeigte nur noch vereinzelte positive Reaktionen, und mehrere o-Stämme wurden nur noch bis zu einem Titer von 1 : 5 agglutiniert.

Bei der vergleichenden Betrachtung der Ergebnisse zeigte sich daß von den beschriebenen Seren Nr. 2022 am besten geeignet

Tabelle 5

Titervergleich der abgesättigten mit den nicht abgesättigten Seren Nr. 2022-2026

Immunisierungsstämme: Nr. 2022-2025: S. dublin 135/61
Nr. 2026: S. typhi murium 1939/61

Salmonella-o-Stämme:	Anti-o-Seren Nr. 2022		2023		2024		2025		2026	
	vA	nA	vA	nA	vA	nA	vA	nA	vA	nA
pull. 22	40+	20	40	20	20	20	20	20	40	40
dublin 27	20	10	40	10	20	10	40	10	10	10
dublin 135	20	40	40	20	20	20	20	20	20	20
dublin 215	160	10	160	10	160	10	160	10	5	5
dublin 322	20	10	20	10	20	5	20	10	20	5
dublin 338	20	5	80	5	20	5	40	10	20	5
dublin 639	20	10	40	10	20	5	20	10	20	10
dublin 996	40	20	40	40	20	20	40	20	40	20
dublin 1012	20	20	40	20	20	20	20	20	20	20
dublin 1060	40	20	40	10	20	20	80	20	20	20
dublin 1247	20	20	20	20	20	20	40	20	20	20
dublin 1444	20	10	20	10	40	5	20	20	10	5
dublin 1517	20	20	20	20	20	20	20	20	40	20
dublin 1519	20	20	40	20	20	20	20	20	40	20
dublin 1520	40	20	20	20	20	20	20	20	20	40
pull. 2090	80	20	160	20	80	20	20	20	20	5
ty.mur.1939	40	10	20	10	10	20	20	10	40	5
chester 2225	20	10	20	10	5	20	5	20	40	20
inf. 2404	20	10	10	10	5	10	20	10	20	20
ty.mur.2431	40	5	20	5	10	5	20	5	20	10
Salmonella-O-Stämme:										
dublin 2310	80	-	160	5	80	-	320	5	-	-
paraty.B 909	20	10	40	10	20	5	40	10	20	5
paraty.C. East Africa	-	-	-	10	-	5	20	5	-	-
ty.mur.8921	5	-	80	-	5	-	40	-	20	-
newington 405/59	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ent.var.Essen 321/59	160	-	160	-	80	-	320	-	-	-

+ = reziproker Titer
vA = vor der Absättigung
nA = nach der Absättigung

war, o-Formen zu erkennen. Der Stamm S. paratyphi B 909 ist nach diesen und anderen Befunden nicht als O-, sondern als R-Stamm anzusehen.

SEREN Nr. 2076 - 2078

Um die Ergebnisse der vorangegangenen Versuche zur Herstellung von Anti-o-Seren noch zu ergänzen, wurden nochmals Immunisierungen mit einem o-Stamm der Gruppe D_1: S. dublin 1520/61 vorgenommen. Die Kaninchen Nr. 2076 - 2078 stammten aus der Institutszucht. Die Normalseren wurden vorher auf eventuell vorhandene Salmonellatiter geprüft.

Die Herstellung des Antigens erfolgte nach einem von CASELITZ (1949) angegebenen Verfahren: Die Antigenbouillon wurde zwei Stunden im Dampftopf erhitzt, um das H-Antigen zu zerstören. Danach wurden die Kaninchen im Zeitraum von 16 Tagen 4mal immunisiert. Bei der 1. Injektion wurden 0,5 ml s.c., bei der folgenden 3., 4. und 5. Injektion 1,0 ml i.v. (Ohrvene) gegeben. 12 Tage nach der letzten Einspritzung wurde das Serum geprüft. Die Ergebnisse mit den o-Stämmen lagen bei den Werten der vorangegangenen Versuche. Bis zu einer Verdünnung von 1 : 10 waren hauptsächlich 4mal positive Reaktionen zu finden. Ungefähr 75% der Stämme waren bei 1 : 20 mindestens 3mal positiv, bei 1 : 40 waren nur wenige positive Reaktionen zu bemerken.

Gegenüber den anderen Versuchen verliefen die Prüfungen mit O-Stämmen fast ausschließlich negativ. Es waren nur wenige (3 von 30), höchstens 1mal positive Werte bis 1 : 5 festzustellen. Damit erübrigte sich die Absättigung mit O-Formen.

Um jedoch das Verhalten der o-Antikörper bei der Absättigung zu ermitteln, wurde das Serum Nr. 2076 mit dem O-Stamm S. dublin 1018/61 abgesättigt (Tabelle 6). Das Bakterienmaterial von 4 Roux-Flaschen wurde für 1 ml Serum verwendet. Im Vergleich mit den Titern des unabgesättigten Serums

Tabelle 6

Titervergleich des abgesättigten mit dem nicht abgesättigten Serum Nr. 2076
Immunisierungsstamm: S. dublin 1520/61

o-Stämme:	nicht abges.	abgesättigt
S. pullorum 22/61	40+	20
S. dublin 27/61	20	10
S. dublin 135/61	40	20
S. dublin 215/61	20	10
S. dublin 322/61	20	10
S. dublin 338/61	20	10
S. dublin 639/61	20	10
S. dublin 996/61	80	20
S. dublin 1012/61	40	20
S. dublin 1060/61	80	40
S. dublin 1247/61	20	20
S. dublin 1444/61	10	-
S. dublin 1517/61	20	20
S. dublin 1519/61	20	20
S. dublin 1520/61	20	20
S. pullorum 2090/61	20	20
S. typhi murium 1939/61	20	20
S. chester 2225/61	10	20
S. infantis 2404/61	-	20
S. typhi murium 2431/61	10	10
O-Stämme:		
S. dublin 2310/61	-	-
S. paratyphi B 909	10	10
S. paratyphi C East Africa	-	-
S. typhi murium 8921	-	-
S. newington 405/59	-	-
S. enteritidis var. Essen 321/59	-	-
S. typhi suis	-	-
S. dublin 1018/61	-	-
S. infantis 706	-	-
S. pullorum	-	-

+ = reziproker Titer

ergaben sich nur geringgradige Abschwächungen; zwei Stämme (S. chester 2225/61 und S. infantis 2404/61) wurden von dem abgesättigten Serum stärker agglutiniert.

Die nach dieser Methode (CASELITZ) gewonnenen Anti-o-Seren zeichneten sich trotz ihrer ebenso niedrigen Titer gegenüber den früher hergestellten durch fehlende O-Antikörper aus, so daß keine Absättigung erforderlich war.

Für die praktische Anwendung wurden daher die Seren 2076 - 2078 herangezogen. Zehn willkürlich ausgewählte Einsendungsstämme (3 S. typhi murium, 3 S. dublin, je ein S. braenderup, S. gallinarum-pullorum, S. infantis und S. duesseldorf) wurden auf ihr Verhalten in Salzlösungen und Anti-o-Seren untersucht. Nach dem Kulturbild gehörten die Stämme 1mal zur S-, 3mal zur I_1-, 4mal zur I_2- und 1mal zur I_3-Form. In der Langsamagglutination mit Anti-o-Seren verhielten sich sämtliche Stämme bis auf den Stamm S. duesseldorf 2656/62 negativ. Der Titer dieses Stammes lag mit dem Serum 2076 bei 1 : 20, mit dem Serum 2077 bei 1 : 10 und mit dem Serum 2078 bei 1 : 40. Er wuchs auf dem üblichen 2%igen Fleischwasseragar in der I_2-Form und ist nach den Ergebnissen der Agglutination mit den Anti-o-Seren als O-Form anzusehen.

X. PATHOGENITÄTSPRÜFUNG AN MÄUSEN

Mit diesem abschließenden Versuch sollte die Pathogenität der benutzten o-Stämme im Mäuseversuch geprüft werden. Das Antigen wurde durch Abschwemmen der Bakterien von einem Schrägagarröhrchen mit 0,1%iger NaCl-Lösung hergestellt. Die Dichte wurde mit Hilfe eines Vergleichsröhrchens (97% $BaCl_2$+3% H_2SO_4) auf stets gleiche Konzentrationen eingestellt. Pro Stamm wurden zwei Mäuse (0.1 und 0,2 ml Antigen) intraperitoneal infiziert.

Die folgende Aufstellung soll die Anzahl der verstorbenen

Mäuse an den jeweiligen Tagen nach der Infektion angeben:

1. Tag = 1 Maus
3. Tag = 9 Mäuse
4. Tag = 8 Mäuse
5. Tag = 3 Mäuse
6. Tag = 3 Mäuse
7. Tag = 1 Maus
11. Tag = 1 Maus
13. Tag = 1 Maus

Die noch verbleibenden 13 Tiere wurden 25 Tage nach der Infektion getötet.

Wie aus der Aufstellung zu ersehen ist, verstarben die meisten Tiere am 3. und 4. Tag nach der Infektion. Vier der untersuchten Stämme erwiesen sich als apathogen (Tabelle 7), bei den übrigen führte die geringere Infektionsdosis entweder zu einer längeren Überlebenszeit oder nur zu vorübergehenden Störungen des Allgemeinbefindens. In zwei Fällen starben die Tiere mit der Dosis von 0,1 ml eher als die mit der höheren Dosis von 0,2 ml.

Aus dem Herzblut sämtlicher gestorbenen Tiere konnten die Stämme in ihrer alten morphologischen und serologischen Form herausgezüchtet werden. Es war in keinem Fall eine Dissoziation erfolgt.

Aus den nach 25 Tagen getöteten Tieren konnten keine Salmonellen mehr isoliert werden. Die Widerstandskraft des Körpers hatte hier ausgereicht, die o-Formen abzutöten. Wenige Tage nach der Infektion war eine leichte Verschlechterung des Allgemeinbefindens festzustellen, die aber sehr bald wieder verschwand.

Tabelle 7

Pathogenitätsprüfung der o-Stämme an Mäusen

o-Stämme:	Infektionsdosis: 0,1 ml	0,2 ml
S. pullorum 22/61	3+	3
S. dublin 27/61	11°	x
S. dublin 135/61	7	4
S. dublin 215/61	3	3
S. dublin 322/61	5	3
S. dublin 338/61	4	4
S. dublin 639/61	3	1
S. dublin 996/61	5	4
S. dublin 1012/61	x	4
S. dublin 1060/61	x	4
S. dublin 1247/61	6	13
S. dublin 1444/61	4	4
S. dublin 1517/61	x	x
S. dublin 1519/61	x	6
S. dublin 1520/61	x	x
S. pullorum 2090/61	x	6
S. typhi murium 1939/61	5	3
S. chester 2225/61	x	x
S. infantis 2404/61	x	x
S. typhi murium 2431/61	3	3

+ = Tod nach ... Tagen nach der Infektion

x = diese Tiere wurden 25 Tage nach der Infektion getötet

° = dieses Tier ist interkurrent verstorben

D. DISKUSSION

Die üblichen Kriterien, nach denen die untersuchten Stämme ausgewählt wurden, können nicht als eindeutige Unterscheidungsmerkmale zum Erkennen oder Herausfinden von bestimmten Dissoziationsformen - wie in diesem Fall o-Formen - angesehen werden. CASELITZ (1949), KRÖGER (1955) und andere Autoren weisen darauf hin, daß durch die Salzteste in 0,9 und 3,5%iger NaCl- und in 0,1 und 0,2%iger Trypaflavinlösung nur bestimmte Formen ausgeschlossen werden können. So sind eigentlich die von mir benutzten Varianten, welche sich in den oben genannten Lösungen positiv verhielten, nur als "Nicht-O-Formen" und nicht unbedingt als o-Formen anzusehen. Wie aus den Angaben der Literatur zu erkennen ist, können auch Intermediärformen in diesen Salzlösungen agglutinieren.

Die Versuche der Passagen über die einzelnen festen Nährböden lassen erkennen, daß das morphologische Bild sich völlig unabhängig vom antigenen Verhalten beliebig verändern läßt. In keinem einzigen Fall trat während der Versuche eine Änderung im antigenen Verhalten auf. Es fand nur eine rein phänotypische Beeinflussung der Stämme durch die verschiedenen Nährböden statt. So erfolgte auf Endo- und Wismutsulfitagar ein glatteres, auf 2%igem Traubenzuckeragar ein rauheres Wachstum. Die Angaben von GEISSLER (1962) über ein Glattwerden von Salmonellen auf Trypsin-Alanin-Agar auch in serologischer Hinsicht konnten nicht bestätigt werden. Es zeigte sich nur eine geringgradige Tendenz zum glatten Wachstum. Zwei Stämme wuchsen sogar rauher als ihre Ausgangsform auf 2%igem Fleischwasseragar. Im antigenen Verhalten konnten keinerlei Veränderungen erzielt werden.

Daß sich dieser morphologische Formenwechsel nur auf den verschiedenen Nährböden vollzog, zeigten die Rückimpfungen auf den üblichen Fleischwasseragar. Er ließ wieder die Grundform entstehen.

Diese Ergebnisse bestätigen die Unabhängigkeit des morphologischen Verhaltens von der antigenen Struktur der Salmonellabakterien.

Die Erkenntnisse von K. HU (1936) und ROELCKE und INTLEKOFER (1938) hinsichtlich des unterschiedlichen mikromorphologischen Wachstums von S und R, bzw. O- und o-Formen auf festen Nährböden konnten nicht bestätigt werden. Auch waren Keimunterschiede in Größe und Gestalt, wie sie z.B. STELLMACHER (1954) erwähnt, nicht festzustellen. Die hier beschriebenen Untersuchungen bestätigen die Ansicht von PRITTWITZ und GAFFRON (1952) und KRÖGER (1955), wonach der morphologische Unterschied S oder R kein Symptom des Einzelkeimes, sondern ein Gruppen- oder Gemeinschaftskriterium ist. Aus der Lagerung der Keime zueinander konnte noch kein Unterschied erkannt werden. Erst die Betrachtung unter schwächerer Vergrößerung zeigte eine unterschiedliche Anordnung von Stäbchengroßverbänden, die die Zugehörigkeit zu einer der morphologischen Dissoziationsformen erkennen ließ.

Unabhängig vom morphologischen Bild auf festen Nährböden wuchsen die in dieser Arbeit verwendeten, in den oben genannten NaCl- und Trypaflavinlösungen positiven Stämme in Bouillon sämtlich mit Bodensatz. Aber nur bei einem Drittel der geprüften Stämme blieb die Bouillon klar, während sich bei den übrigen Stämmen die überstehende Flüssigkeit leicht trübte. Dieses Verhalten gleicht den Ergebnissen von KRÖGER (1955), der im Gegensatz zu PRIGGE und KIKSCH (1942), CHLOETAL (1950) und CASELITZ (1949) ebenfalls in Bouillon keine völlige Sedimentation seiner o-Stämme feststellte.

Eine der Agglutination in Salz- und Farbstofflösungen überlegene Methode stellt die von LEHNERT und THAL (1959) beschriebene Langsamagglutination mit Metallsalzlösungen dar. Ebenso wie bei den genannten Autoren verhielten sich die

o-Stämme im Gegensatz zu den O-Formen noch in höheren Verdünnungen positiv. Bei den O-Formen traten Agglutinationen außer bei wenigen Stämmen nur in den unteren Verdünnungsstufen auf. Ob kausale Zusammenhänge zwischen dem Molekulargewicht der Salze und der Titerhöhe bestanden, oder ob sich Parallelen durch die Wertigkeit der Salze bildeten, konnte nicht geklärt werden. Die Titer der Salze mit gleicher Wertigkeit lagen ungefähr in gleicher Höhe, so bei den 3-wertigen Salzen: Lanthannitrat, Cernitrat und Cerchlorid bei ca. 1:10240, bei den 2-wertigen Salzen: Eisen-(II)-Chlorid, Kupfernitrat und Calciumnitrat bei ca. 1:320.

Die im Rahmen dieser Arbeit hergestellten Anti-o-Seren erreichten nicht so hohe Titer, wie sie z.B. STELLMACHER (1954) bei seinen Seren (1 : 640) beschrieben hat. Der Grund mag in der Wahl der Stämme oder auch in der Methode der Gewinnung zu suchen sein. Die hier benutzte Technik zur Herstellung der ersten Seren zielte darauf ab, das Antigen möglichst schonend zu gewinnen, und daher wurde auf eine Erhitzung verzichtet. Sie brachte keine zufriedenstellenden Ergebnisse. Um bessere Titer zu erhalten, wurde das Antigen für den letzten Versuch nach einem von CASELITZ (1949) angegebenen Verfahren hergestellt. Die H-Antigene wurden durch zweistündiges Erhitzen im Dampftopf ausgeschaltet. Aber auch mit dieser Methode konnten nur Seren gewonnen werden, deren Titer sich auf die unteren Verdünnungsstufen beschränkten. Die Prüfungen der Seren Nr. 2076, 2077 und 2078 mit O-Stämmen erbrachten negative Resultate, was zeigte, daß durch die Immunisierung mit dem Stamm S. dublin 1520/61 keine O-Antikörper gebildet worden waren. Diese Seren waren damit geeignet, o- von O-Formen zu unterscheiden.

CASELITZ (1949), KRÖGER (1955) und andere Autoren fordern von reinen und tatsächlichen o-Formen noch die Apathogenität.

Dieses Kriterium besitzen nur ein Teil der benutzten Stämme: S. dublin 27/61, S. dublin 1517/61, S. dublin 1520/61, S. chester 2225/61 und S. infantis 2404/61. Bei einigen anderen Stämmen scheint eine verminderte Pathogenität vorzuliegen; während die Dosis von 0,2 ml Antigen zum Tode führte, überlebten die Tiere mit 0,1 ml Antigen die Infektion, und es konnten auch keine Salmonellakeime mehr aus den getöteten Tieren isoliert werden.

Das Verhalten der einzelnen Stämme ist in der Tabelle 8 vergleichend dargestellt. Es zeigt sich ein ziemlich kompliziertes Bild und macht deutlich, daß eine oder die andere Reaktion nicht losgelöst von den anderen einzeln beurteilt werden kann, sondern daß die Gesamtheit der Befunde zur Beurteilung herangezogen werden muß. Danach kann festgestellt werden, daß es sich bei den Stämmen S. dublin 1517/61, S. dublin 1520/61 und S. chester 2225/61 um o-Formen gehandelt hat. Die Stämme S. gallinarum-pullorum 22/61, S. dublin 1060/6 S. dublin 1519/61 und S. gallinarum-pullorum 2090/61 wären als serologische Zwischenformen anzusehen, welche den o-Formen näher als den O-Formen stehen. Der Stamm S. dublin 215/61 ist als serologische Zwischenform mit noch relativ viel O-Antigen zu betrachten. Bei den noch verbleibenden 12 Stämmen handelt es sich um Ω-Formen, die eine Mittelstellung zwischen O- und o-Formen einnehmen. G e g e n die Annahme, daß es sich um o-Formen handelt, spricht die fehlende Apathogenität und das mit einer leichten Trübung der überstehenden Flüssigkeit einhergehende Wachstum in Bouillon; d a f ü r spricht ihr Verhalten in Metallsalzlösungen und Anti-o-Seren. Auch zeigte ein Teil der Stämme eindeutig positive Reaktionen in NaCl- und Trypaflavinlösungen. Wegen dieser unterschiedlichen Befunde sind die Stämme als Ω-Formen anzusehen.

Abschließend kann festgestellt werden, daß eine Unabhängig-

Tabelle 8: Vergleichende Aufstellung der Ergebnisse der Versuche mit den Teststämmen (der besseren Übersicht wegen wurden Kriterien, die für o-Formen sprechen, jeweils mit + gekennzeichnet).

Stämme:	1	2	3	4	5	6	7	8
S. pullorum 22	S	++	++	++/+	+++/++++	+++	-	Ω(o)
S. dublin 27	I_2	++	(+)	+/-	++/+++	++	++	Ω
S. dublin 135	R	++	++	±/-	+++/+++	+++	-	Ω
S. dublin 215	I_1	-	-	+/-	+/+	++	-	Ω(O)
S. dublin 322	I_1	++	±	+/-	+++/++	++	-	Ω
S. dublin 338	R	++	+	+/-	+++/+++	+	-	Ω
S. dublin 639	I_2	++	++	+/-	++++/++	++	-	Ω
S. dublin 996	I_2	+	++	+/-	+++/++	+++	-	Ω
S. dublin 1012	I_2	+	++	+/-	+++/+++	+++	+	Ω
S. dublin 1060	R	++	++	++/+	+++/+++	+++	+	Ω(o)
S. dublin 1247	I_3	+	++	+/-	++++/++	+++	-	Ω
S. dublin 1444	I_3	+	+	+/-	+++/++	++	-	Ω
S. dublin 1517	I_4	++	++	++/+	++++/+++	+++	++	o
S. dublin 1519	I_2	++	++	++/+	+++/+++	+++	+	Ω(o)
S. dublin 1520	I_4	++	++	++/+	+++/++++	+++	++	o
S. pullorum 2090	I_2	++	++	++/+	+++/+++	+++	+	Ω(o)
S. ty.mur. 1939	I_3	+	++	+/-	++++/++++	++	-	Ω
S. chester 2225	I_4	+	++	++/+	++++/++++	+++	++	o
S. infantis 2404	I_3	±	++	+/-	+/+++	+++	++	Ω
S. ty.mur. 2431	I_3	+	+	+/-	++++/++++	++	-	Ω

= morphologisches Kulturbild

= Verhalten in 0,9%iger NaCl-Lösung

= Verhalten in 0,1%iger Trypaflavinlösung

= Wachstum in Bouillon: erstes Zeichen: Bodensatz: ++ = stark, + = schwach / zweites Zeichen: überstehende Flüssigkeit: + = klar, - = leicht getrübt

= Verhalten in Metallsalzlösungen: erstes Zeichen: reziproker Titer 3-wertiger Salze: ≥ ++++ = 10240, +++ = ≈10240, ++ = ≈5120, + = <5120 / zweites Zeichen: reziproker Titer 2-wertiger Salze: ++++ = ≈640, +++ = ≈320, ++ = ≈160, + = <160

= Agglutination in Anti-o-Seren: + = 1:5, ++ = 1:10, +++ = 1:20

= Verlust der Pathogenität: ++ = apathogen, + = schwach pathogen, - = pathogen

= Beurteilung der Stämme: Ω = serologische Zwischenform, o = o-Form, Ω(o) = zur o-Form hinneigende Ω-Form, Ω(O) = zur O-Form hinneigende Ω-Form

keit zwischen dem morphologischen S-R-Formenwechsel und dem antigenen O-o-Strukturwechsel voll bestätigt werden konnte. Diese Erkenntnis hat eine gewisse Bedeutung für die Antigen- und Serumherstellung, weil morphologisch glatt erscheinende Stämme serologisch rauh sein können und somit unbrauchbar sind. Als wenig geeignet, O- und o-Formen zu differenzieren, erschien der Salz- und Trypaflavintest, während das Wachstum in Bouillon gute Übereinstimmung mit den Ergebnissen der anderen Versuche zeigte. Die Agglutinationen in Schwermetallsalzlösungen, welche LEHNERT und THAL empfehlen, erwiesen sich bis auf wenige Ausnahmen als gut geeignet für die Unterscheidung von O- und o-Formen. Prinzipiell eignen sich Anti-o-Seren ebenfalls gut, nur ist ihre Herstellung relativ schwierig.

Als einfachste Laboratoriumsmethode kann der Bouillontest empfohlen werden. Ist eine genauere Analyse erforderlich, sollte die Agglutination in Schwermetallsalzlösungen und Anti-o-Seren herangezogen werden.

E. ZUSAMMENFASSUNG

1) Bei der morphologischen Prüfung der o-Formen von Salmonellabakterien wurde auf Endo- und Wismutsulfitagar ein glatteres, auf Traubenzuckeragar ein rauheres und auf Trypsin-Alanin-Agar ein uneinheitliches, eher zum glatten Kulturbild hinneigendes Wachstum festgestellt, wobei in jedem Falle die serologische Struktur erhalten blieb.

2) Die Deckglaskultur erbrachte keine mikromorphologischen Unterschiede zwischen S-R- und O-o-Formen.

3) Das Wachstum in Bouillon erwies sich als einfaches und relativ sicheres Unterscheidungsmerkmal zwischen O- und o-Formen.

4) Das Verhalten in NaCl- und Farbstofflösungen war nicht immer geeignet, o- von O-Formen zu unterscheiden.

5) Die Langsamagglutination in Metallsalzlösungen erwies sich als empfindlichere Reaktion zur Differenzierung von o-Formen.

6) Mit Hilfe der von Kaninchen gewonnenen Anti-o-Seren konnten die Teststämme auf ihren Gehalt an o-Antigen geprüft werden. Diese Methode ist für das Erkennen von o-Formen gut geeignet, nur ergaben sich Schwierigkeiten, ausreichend hohe Titer zu erzielen.

7) In der Pathogenitätsprüfung an Mäusen erwies sich ein Teil der Stämme als apathogen. Umwandlungen in die O-Form konnten nicht beobachtet werden.

8) Bei der vergleichenden Betrachtung erwiesen sich 3 Stämme als o-Formen, die restlichen 17 als serologische Zwischenformen. Der Stamm S. paratyphi B 909 aus den O-Kontrollen wurde als Ω-Form erkannt.

F. LITERATURVERZEICHNIS

1. ARKWRIGHT, J.A. Variation in bacteria in relation to agglutination by salts and by specific sera. J.of Path. 23, 358, 1920, zitiert nach KRÖGER, E. 1955, S. 476
2. ARKWRIGHT, J.A. and PITT, The effect of growing smooth and rough cultures in serum. J.of Path. 32, 229, 1929 zitiert nach KRÖGER, E. 1955
3. ALESSANDRINI, A. e M. SABATUCCI La tripaflavina quale mezzo di differenzazione dei microbi des genere Brucella. Ann.Igiene 41, 29-34, 1931, zitiert nach KRÖGER, E. 1955
4. BADER, R.E. Die Typhus-Paratyphus-Enteritis-Gruppe (Die Salmonella-Gruppe). Erg.Hyg. 26, 235-332, 1949
5. BAERTHLEIN, K. Über bakterielle Variabilität, insbesondere sogenannte Bakterienmutationen. Zbl.Bakter.I.Orig. 81, 369-435, 1918
6. BAUCH, R. Über inagglutinable Stämme des Bacterium dysenteriae (Shiga-Kruse). Zbl.Bakter.I.Orig. 81, 228-235, 1918
7. BEGUIN, S. et J.GRABAR Etudes sur les formes rugueuses des Salmonelles. Ann.Inst.Pasteur 83, 539-554, 1952
8. BEGUIN, S. et J.GRABAR Etudes sur les formes rugueuses des Salmonelles. Ann.Inst.Pasteur 84, 723-734, 1953
9. BETTENCOURT, N.de Etude sur les types "S et R" de l' Eberthella typhi. Arqu.Inst.bacter. Camara Pestana 6, 11-26, 1930
10. BISSET, K.A. The structure of "rough" and "smooth" colonies. J.of Path. 47, 223-229, 1938
11. BOIVIN, A., 1942, zitiert nach KRÖGER, E. 1955
12. BOIVIN, A., 1947, zitiert nach SCHLOSSBERGER, H. 1952
13. BOIVIN, A., L.CORRE et Y.LEHOULT Sur l'impossibilité de tracer, entre les salmonella et les colibacilles, quelque frontière absolue, basée sur la spécificité des antigènes somatiques. C.r.Soc.Biol. Paris 136, 432-433, 1942

14. BRANDIS, H. Untersuchungen über Bakteriophagen, die auf rauhe Bakterienstämme wirken. Zbl.Bakter.I.Orig. 165, 305-312, 1956
15. BRAUN, W. The production of apparent cycles in bacterial variation. J.Bact. 1947, 53, 250-251
16. BROSSA, G.A. Über die Agglutination von Bakterien durch Farbstoffe. Z.Immun.forsch. 37, 221-227, 1923
17. BURNET, F.M. Bacteriophage activity and the antigenic structure of bacteria. J.of Path. 33, 647-664, 1930
18. CASELITZ, FH. Der S- und R-Formenwechsel bei Salmonella-Bakterien ohne Vi-Antigen. Z.Hyg. 130, 223-234, 1949
19. CASELITZ, FH. Ultraschallwirkung bei Bakterien der Salmonella-Gruppe. Z.Hyg. 133, 113-121, 1951
20. CASELITZ, FH. Ein Beitrag zum S-R-Formenwechsel der Salmonellabakterien. Z.Immun.forsch. 109, 149-158, 1952
21. CASTELLI, G.D. Boll.Ist.sieroter.milan. 12, 3, 1934 zitiert nach KRÖGER, E. 1955, S. 503
22. DELBRÜCK, M. Spontaneous mutations of bacteria. Ann. Missouri Bot.Garden 32, 223, 1945, zitiert nach SCHLOSSBERGER, H. 1952
23. DUBOS, R.I. The Bact.cell. Cambr.Mass. USA 1947
24. EISENBERG, PH. Untersuchungen über die Variabilität der Bakterien. I.Mitt. Zbl.Bakter.I.Orig. 63, 305-321, 1912, II.Mitt. Zbl.Bakter.I.Orig. 66, 1-19, 1912, IV. Mitt. Zbl.Bakter.I.Orig. 449-488, 73, 1914
25. EISENBERG, PH. Über Mutationen bei Bakterien und anderen Mikroorganismen. Erg.Hyg. 1, 28-142, 1914
26. FORTNER, J. Die Mikroskopie der aeroben und anaeroben Oberflächenkolonien auf hängendem Agar. Zbl.Bakter. I.Orig. 115, 96-99, 1930
27. GEISSLER, H. Kolloquium und Fortbildungskurs für Laboratoriumstierärzte über die Diagnostik von Geflügelkrankheiten an der Tierärztlichen Hochschule Hannover. Tierärztl.Umschau 1, 17.Jg. 1962

28. GEISSLER, H. Persönliche Mitteilung 1962
29. GIOVANARDI, A. Untersuchungen über ein besonderes, bei einigen mit Vi-Antigen versehenen B. typhi-Stämmen beobachtetes Dissoziationsphänomen. Zbl.Bakter.I.Orig. 141, 341-354, 1938
30. GRINELL, FR.B. Studies on the relationship of certain variants of B. typhosus. I. Agglutination and agglutinin absorption. J.of Exper.Med. 54, 577-585, 1931
31. GUNDEL, M. Die ansteckenden Krankheiten. Kap.I Georg Thieme 1950
32. HAAS, R. Über Endo- und Exotoxine von Shigabazillen. Z.Immun.forsch. 91, 254-272, 1937
33. HABS, H. und L.SEITZ Variationsversuche an Bakterien der Paratyphusgruppe. Z.Hyg. 116, 111-118, 1934
34. HEYMANN, G. Über die Veränderungen der Antigenstruktur im Verlauf von Dissoziation bei Sh. Flexneri Typ 3(H). Z.Hyg. 134, 524-534, 1952
35. HIRSCH, W. The agglutinability by trypaflavine of B. typhosus and its relation to the Vi antigen. J.of Path. 44, 349-355, 1937
36. HU, K. Studien über den Entwicklungsmodus der Bakterien bei Einzellkulturen auf Nährbodenfilm. III.Mitt. Beobachtungen über den Entwicklungsmodus der S- und R-Formen der Bakterien. Jap.J.exper.Med. 14, 67-72, 1936
37. IDE, M. On the R type variation of Salmonella group. Serological studies. Kitasato Arch.Exper.Med. 15, 16-30, 1938
38. JOLLOS, V. Variabilität und Vererbung bei Protisten Referat auf der 10. Tagung der Deutschen Vereinigung der Mikrobiologen in Göttingen 1924, Zbl.Bakter.I.Orig. 93, 22-37, 1924
39. JORDAN, E.O. The interconvertibility of "rough" ard "smooth" bacterial types. J.Amer.Med.Assoc. 86, 177, 1926, zitiert nach KRÖGER, E. 1955

40. KAUFFMANN, F. A new antigen of Salmonella paratyphi B and Salmonella typhi murium. Acta path.microbiol. scand. 34, 299-304, 1956

41. KAUFFMANN, F. Über die diphasische Natur der Typhusbacillen. Z.Hyg. 119, 103-118, 1937

42. KAUFFMANN, F. On the T-antigen of Salmonella bareilly. Acta path.microbiol.scand. 40, 343-344, 1957

43. KAUFFMANN, F., LÜDERITZ, O, STIERLIN, H. und WESTPHAL, O. Zur Immunchemie der O-Antigene von Enterobacteriaceae. I. Analyse der Zuckerbausteine von Salmonella-O-Antigenen. Zbl.Bakter.I.Orig. 178, 442-458, 1960

44. KAUFFMANN, F., C.KRÜGER, O.LÜDERITZ und O.WESTPHAL Zur Immunchemie der O-Antigene von Enterobacteriaceae. VI. Vergleich der Zuckerbausteine von Polysacchariden aus Salmonella-S-und R-Formen. Zbl.Bakter.I.Orig. 182, 57-66, 1961

45. KROGER, E. Experimentelle Untersuchungen zum morphologischen S/R- und antigenen O/o-Formenwechsel gramnegativer Darmbakterien. Z.Naturforsch. 8 b, 133-141, 1953

46. KRÖGER, E. Zum sog. "R"-Antigen der gramnegativen Darmbakterien. Z.Immun.forsch. 110, 414-425, 1953

47. KRÖGER, E. Zur Dauer der Bakterienausscheidung bei gesunden "temporären" Salmonella-Keimträgern. Ärztl. Wschr. 1953, 1083-1084

48. KRÖGER, E. Die Variationen S/R und O/o insbesondere bei gramnegativen Darmbakterien (zur Variabilität, Differenzierung, Chemie, Toxikologie und Immunologie der Formtypen). Erg.Hyg. 29, 475-622, 1955

49. KRÖGER, E., E.THOFERN und K.SCHULZ Serologische Untersuchungen bei Diphtheriebakterien. II.Mitt. Z.Hyg. 135, 254-274, 1952

50. LEHNERT, E. und E.THAL Die Erfassung der Dissoziationsformen von Salmonellastämmen mittels ihrer Elektrolytempfindlichkeit. Zbl.Vet.Med. 6, 145-153, 1959

51. LINGELSHEIM, V. Zur Frage der Variation der Typhusbacillen und verwandter Gruppen. Zbl. Bakter.I.Orig. 68, 577-582, 1913
52. LOGHEM, van J.J. Die Individualitätstheorie der bakteriellen Veränderlichkeit. Z.Hyg. 110, 382-390, 1929
53. LÜDERITZ, O., KAUFFMANN, F., STIERLIN, H. und O.WESTPHAL Zur Immunchemie der O-Antigene von Enterobacteriaceae II. Vergleich der Zuckerbausteine von Salmonella-S-, R- und T-Formen. Zbl.Bakter.I.Orig. 179, 180-186, 1960
54. LURIA, S. Recent advances in bacterial genetics. Bacter.Rev. 11, 1, 1947, zitiert nach SCHLOSSBERGER,H.195
55. MALVOZ, E. Sur l'agglutination du bacillus typhosus par des substances chimiques. Ann.Inst.Pasteur 11, 582-590, 1897
56. MEYER, K. und B. GOLDENBERG Umwandlungsversuche an pathogenen Darmbakterien. I. Die Rückbildung von R- in S-Formen. Z.Immun.forsch. 80, 121-134, 1933
57. MILES, A.A. and N.W. PIRIE Properties of antigenic preparations from Brucella melitensis: biological properties of antigen and products of gentle hydrolysis. Brit.J.Exper.Path. 20, 278-296, 1949
58. MØLLER, O. Bacterial variation in Escherichia Coli. Studies of Morphologie, Cultural, Physiologic and Serologic Properties of the Variants. Lund, Sweden: Gleerupska Univ.-Bokhandeln, 1948
59. MÜLLER, R. Medizinische Mikrobiologie, 4. Auflage, Urban & Schwarzenberg 1950
60. NEUFELD, F. und LEVINTHAL, W. Beiträge zur Variabilität der Pneumococcen. Z.Immun.forsch. 55, 324-340, 1928
61. PAMPANA, E.J. La dissoziazione microbica e la tripaflavina come suo reattivo. Ann.Igiene 41, 537, 1931 zitiert nach KRÖGER, E. 1955, S. 503
62. PREISZ, H. Studien über das Variieren und das Wesen der Abschwächung des Milzbrandbacillus. Zbl.Bakter. I.Orig. 58, 510-565, 1911

63. PRIGGE, R. und L. KIKSCH Experimentelle Untersuchungen über die giftigen Antigene des Ruhrbacillus Shiga-Kruse. Z.Hyg. 123, 417-437, 1942
64. PRIGGE, R. zitiert nach KRÖGER, E. 1955
65. PRITTWITZ, J.von und GAFFRON Untersuchungen über die Struktur von S- und R-Formen bei gramnegativen Darmbakterien mit dem Phasenkontrastmikroskop. Arch.Hyg. 218-225, 1952
66. REIMANN, H.A. Variations in specificity and virulence of pneumococci during growth in vitro. J.of Exper.Med. 41, 587-600, 1925
67. ROELCKE, K. Zur Pathogenese der Kruse-Sonne-(E)-Ruhr. Zbl.Bakter.I.Orig. 148, 179-183, 1942
68. ROELCKE, K. und H.INTLEKOFER Untersuchungen über drei verschiedene Wuchsformen eines Enteritiserregers. Zbl.Bakter.I.Orig. 142, 42-51, 1938
69. SCHLOSSBERGER, H. in KOLLE/HETSCH, Experimentelle Bakteriologie und Infektionskrankheiten, 11.Aufl., Kap. I Urban & Schwarzenberg 1952
70. SCHLOSSBERGER, H. und W.FRIEBER Zur Frage der Umwandlung von Typhusbacillen in Paratyphus-B-Bacillen. Z.Hyg. 128, 331-360, 1948
71. SCHMIDT, H. Fortschritte der Serologie, Steinkopf Verlag Darmstadt 1955
72. SCHNEWEIS, K-E. Zur Mikromorphologie glatter und rauher Enterobacteriaceen-Kulturen. Zbl.Bakter.I.Orig. 176, 71-84, 1959
73. SCHOLTENS, R.TH. Der Glatt-Rauhformenwechsel des Bacterium Typhi. Zbl.Bakter.I.Orig. 139, 467-476, 1937
74. SCHUETZE, H. J.Hyg.(Brit.) 20, 335, 1921, zitiert nach CASELITZ, FH. 1949
75. SCOTT, W.M. The "Thompson" type of Salmonella. J.of Hyg. 25, 398-405, 1926

76. SOEKAWA, M., S.UEDA, K.MATSUMOTO and H.IZAWA Three distinct colony forms of Salmonella abortus equi. The Japanese Journal of Veterinary Science. The Official Organ of the Japanese Society of Veterinary Science, 23, August 1961 No.4
77. STELLMACHER, W. Zur Typendifferenzierung von Salmonella-Stämmen mit überwiegendem R-Antigen. Mh.Vet.med. 1954, 387-391
78. STELLMACHER, W. Untersuchungen mit Salmonella-o-Serum. Mh.Vet.med. 1958, 655-658
79. TACU, D., A.TACU, A.BERCAN, S.CEAUSESCU Valoare imunizansa a formelor R de Salmonella suipestifer var. Kunzendorf. Lucrarile stinsifice inst. ser. si vaccin. Pasteur Bucuresti 4, 297-304, 1960
80. TAEGUE und BUXTON, Z.phys.Chemie 57, 76, 1907, zitiert nach KRÖGER, E. 1955
81. TAL, CHLOE Differences in toxicity of the S- and R-variants of Shigella dysenteriae. J.of Immun. 60, 221-227, 1950
82. TATUM, E.L. and J.LEDERBERG Gene recombination in the bacterium Escherichia coli. J.Bakter.53, 673-684, 1947
83. THAL, E. and HOLMQUIST H. Observations on in vivo dissociation of salmonella dublin. Nord.Vet.Med. 9, 421-430, 1957
84. WAALER, E. Studies on dissociation of the dysentery bacilli. Skrift.Norske Vidensk-Akad. Oslo, Mat.-Naturvidensk Kl. 1925, 1-176, 1936
85. WAGNER, W-H. und H.BREDEHORST Untersuchungen über Farbstoffagglutination und elektrophoretisches Verhalten von Rauhformen. Zbl.Bakter.I.Orig. 159, 323-330, 1953
86. WEIL, E. und A.FELIX Über den Doppeltypus der Rezeptoren in der Typhus-Paratyphus-Gruppe. Z.Immun.forsch. 29, 24-91, 1920

87. WELCKER, A. Variationsstudien an Bakterien der Paratyphusgruppe im Tierversuch. Z.Hyg. 116, 273-280, 1934
88. WESTPHAL, O. und O. LÜDERITZ Chemische Erforschung von Lipopolysacchariden gramnegativer Bakterien. Angew. Chemie 66, 407-417, 1954
89. WHITE, P.B. zitiert nach KRÖGER, E. 1955
90. ZANDER, L. Zur Frage der Spezifität der Bakteriophagen in Beziehung zur Antigenstruktur bei einigen Salmonellen der serologischen Gruppe "B" und "D". Gießen, Vet.-med. Diss. 1960

Herrn Prof. Dr. M. ZUNKER danke ich für die großzügige Bereitstellung des Arbeitsplatzes und des Materials.

Besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. F. ULBRICH für die Überlassung des Themas und die Unterstützung, die er mir bei der Anfertigung der Arbeit gewährt hat.

Auch danke ich Herrn Dr. E. BULLING für seine großzügige Hilfe, die er mir jederzeit bereitwilligst zuteil werden ließ. Weiterhin bin ich den übrigen Mitarbeitern, besonders Frau Erika KRAUSE, zu Dank verpflichtet.

LEBENSLAUF

Als Sohn des Keramikers Johannes Hummel und seiner Ehefrau Käte, geb. Hofmann, wurde ich, Peter Hummel, am 6. September 1938 in Grunau Kreis Flatow geboren.

Nach kriegsbedingter Umsiedlung besuchte ich von 1944 bis 1948 in Weißbach bei Königsbrück und anschließend bis 1952 in Meißen die Volksschule, danach bis zum Abitur im Juni 1956 die Ernst-Schneller-Oberschule in Meißen.

Vom Herbst 1956 bis 1958 war ich an der vet.-med. Fakultät der Humboldt-Universität zu Berlin (Ost) und daran anschließend an der vet.-med. Fakultät der Freien Universität Berlin immatrikuliert. Im November 1961 legte ich das vet.-med. Staatsexamen an der Freien Universität Berlin ab.